

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
und des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Dr. Neff

Klinik für Zahnerhaltungskunde
Direktor: Prof. Dr. Frankenberger

Untersuchung des Kontaminationsgrades von Wurzelkanalinstrumenten aus Zahnarztpraxen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde

Dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Maja Luise Brilmayer
aus Hannover

Marburg 2011

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
19.05.2011

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Matthias Rothmund

Referent: PD Dr. David Sonntag

1. Korreferent: Prof. Dr. Nicole Arweiler

**Für
meine Großväter
Dr. med. H. Brilmayer
und
Dr. med. dent. S. Wulf**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Methodik der Literaturrecherche	3
2.2. Hygiene endodontischer Instrumente	5
2.2.1. Nachweis von Rückständen auf endodontischen Instrumenten	5
2.2.1.1. Rückstände auf verpackungsneuen Instrumenten	5
2.2.1.2. Rückstände auf artifiziell kontaminierten Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden	6
2.2.1.3. Rückstände auf am Patienten genutzten Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden	9
2.2.2. Fragebögen zur Hygiene in zahnärztlichen Praxen	10
2.2.3. Risikoeinschätzung von endodontischen Instrumenten	12
2.3. Bakterien	13
2.3.1. Bakterien im Wurzelkanalsystem	13
2.3.2. Wachstum von Bakterien auf endodontischen Instrumenten	14
2.3.3. Risikoabschätzung	17
2.4. Proteine	17
2.4.1. Vorkommen von Proteinen auf endodontischen Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden	17
2.4.2. Prionen	20
2.4.2.1. Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	20
2.4.2.2. Risiko der Übertragung der CJK durch endodontische Therapie	23
2.5. Offizielle Richtlinien und Empfehlungen zu endodontischen Instrumenten sowie deren Risikoeinschätzung	25
2.5.1. Übertragungsrisiko der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit	25
2.5.2. Offizielle Richtlinien und Empfehlungen zur Dekontamination	31
3. Zielsetzung	36

4. Material und Methoden	37
4.1. Versuchsdesign	37
4.2. Auswahl der Feilen	38
4.3. Erhebung der Hygieneumsetzung und Kodierung der Praxen	38
4.4. Aufteilung der Feilen	39
4.5. Versuchsabläufe	39
4.5.1. Untersuchung auf Proteine	39
4.5.2. Untersuchung auf Bakterien	43
4.6. Statistische Auswertung	44
5. Ergebnisse	46
5.1. Menge der nachgewiesenen Proteine	46
5.1.1. Vergleich der Bundesländer	47
5.1.2. Vergleich der Städte	47
5.1.3. Vergleich der Praxen	48
5.2. Menge der nachgewiesenen Bakterien	49
5.2.1. Vergleich der Bundesländer	50
5.2.2. Vergleich der Städte	50
5.2.3. Vergleich der Praxen	51
5.3. Auswertung der Fragebögen	52
5.3.1. Dekontaminationsmethoden von endodontischen Instrumenten	52
5.3.2. Kontrolle der Wiederaufbereitung	52
5.3.3. Lagerung der Instrumente	53
5.3.4. Schulung und Dokumentation	53
6. Diskussion	55
6.1. Material und Methoden	55
6.1.1. Auswahlkriterien und Fallzahl	55
6.1.2. Proteine	55
6.1.3. Bakterien	57
6.2. Dekontaminationsmethoden in zahnärztlichen Praxen	59
6.3. Bedeutung für die Infektionsprävention	64
6.4. Schlussfolgerung	67

7. Zusammenfassung	68
7.1. Zusammenfassung deutsch	68
7.2. Zusammenfassung englisch	70
8. Literaturverzeichnis	72
9. Anhang	84
9.1. Materialverzeichnis	84
9.2. Fragebogen	85
9.3. Anschreiben an Zahnarztpraxen	87
9.4. Postkartenentwurf für Rückmeldung	88
10. Danksagung	89
11. Tabellarischer Lebenslauf	90
12. Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	91
13. Ehrenwörtliche Erklärung	92

1. Einleitung und Problemstellung

In der Zahnmedizin haben Desinfektions- und Sterilisationsprozesse in den vergangenen Jahren einen zunehmend höheren Stellenwert erlangt. Eine neue Risikobeurteilung zahnärztlicher Instrumente durch das Robert Koch-Institut sowie eine zunehmende Überprüfung der Umsetzung von Hygienerichtlinien durch die Landeszahnärztekammern spiegeln diese Entwicklung wider.

Ein Grund für diese Entwicklung ist das Risiko der iatrogenen Übertragungsmöglichkeit von Krankheiten, insbesondere der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit.

Es werden verschiedene Formen der transmissiblen spongiformen Enzephalopathie (TSE) unterschieden, hierunter die Sporadische (sCJK), die Familiäre (fCJK), die Iatrogene (iCJK), die Variante (vCJK), das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) und die Fatale Familiäre Insomnia (FFI).

Seit der erstmaligen Meldung von Fällen der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit im Jahr 1996 sind bis Juni 2006 insgesamt 161 Fälle im Vereinigten Königreich, siebzehn in Frankreich, vier in Irland, zwei in den USA sowie in den Niederlanden und jeweils einer in Kanada, Italien, Japan, Portugal, Saudi-Arabien und Spanien aufgetreten.

Der kausale Zusammenhang zwischen der Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit und der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) wurde epidemiologisch, biochemisch und anhand von Transmissionsmodellen bestätigt.

Primär wurden Prionen der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit im Zentralen Nervensystems (ZNS) nachgewiesen. Ebenso wurde dieses Protein im Ganglion Trigeminale vorgefunden, was zur Annahme führt, dass auch distale Äste des Nervus Trigeminus infiziert sein können. Zusätzlich besteht die Besonderheit, dass bei der vCJK das Prion-Protein Scapie (PrP^{sc}), welches auch zunehmende Prion-Protein Transmissible Spongiforme Enzephalopathie (PrP^{TSE}) genannt wird, in lymphatischem Gewebe auftritt.

Innerhalb der Weltgesundheitsorganisation bestehen Uneinigheiten bezüglich des Übertragungsrisikos der CJK durch zahnmedizinische Eingriffe. Wurzelkanalinstrumente werden vor allem wegen ihres direkten Kontaktes mit den peripheren Zweigen des Nervus Trigeminus als besonders gefährlich für

die Übertragung dieser Erkrankung eingestuft. Das Robert Koch-Institut ordnet endodontische Feilen in der Risikobewertung der Kategorie „Kritisch B“ zu. Diese Kategorie umfasst Instrumente, die Haut und Schleimhaut durchdringen und dabei in Kontakt mit Blut, inneren Geweben oder Organen kommen.

Die Reinigung und Erweiterung von Wurzelkanälen wird notwendig, wenn die Pulpa eines Zahnes irreversibel geschädigt oder nekrotisch ist oder aber restaurative Maßnahmen die Devitalisierung des Zahnes erfordern. Hierbei wird der Kanal chemomechanisch von Pulpagewebe und Mikroorganismen gereinigt. Um eine möglichst wirkungsvolle mechanische Säuberung des Kanals zu erreichen, ist die Geometrie der endodontischen Feilen komplex. Diese Geometrie erschwert eine umfassende Reinigung und Sterilisation der Instrumente, welche aber aufgrund des Risikos der Übertragung von Infektionskrankheiten gefordert werden muss. Zudem ist die gründliche Reinigung unabdingbar für die Inaktivierung und Abtötung von Mikroorganismen, da das Vorhandensein von biologischem Schmutz und dessen Anhäufung durch wiederholte Sterilisationsvorgänge die effiziente Penetration von chemischen Lösungen hemmt.

Im April 2006 veröffentlichte das Robert Koch-Institut eine Neuauflage der Hygienemaßnahmen, welche nun gesetzlich im Infektionsschutzgesetz (§23) verankert sind. Die Umsetzung und Aufsicht der Vorschriften wird auf Länderebene reguliert, da kein bundeseinheitliches Hygienerecht vorliegt. Alle Hygienemaßnahmen sind Teil des vom Gesetzgeber geforderten Qualitätsmanagements im Gesundheitswesen. Dennoch zeigt sich, dass die Durchsetzung und Ausführung dieser empfohlenen Reinigungsprotokolle bislang nicht ideal sind, was zur Konsequenz hat, dass die Instrumente nach abgeschlossener Aufbereitung teilweise insuffizient dekontaminiert sind.

Es stellt sich daher die Frage, ob auf endodontischen Feilen Proteinrückstände sowie Bakterien nachgewiesen werden können und ob die derzeitigen Dekontaminationsmethoden in zahnärztlichen Praxen adäquat ausgeführt werden.

2. Literaturübersicht

2.1. Methodik der Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte im Internet über die Datenbanken PubMed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> und über Google Scholar <http://scholar.google.de/schhp?hl=de>. Die Suche wurde durch die Limits „Abstracts“, „English“ und „Dental Journal“ eingegrenzt.

Es wurden zwei bis vier Schlagwörter in verschiedenen Kombinationen gesucht (siehe Tabellen), die nachfolgend zu einer Auswahl von Artikeln führte. Diese Quellen wurden mithilfe der Abstracts auf ihre Verwendbarkeit für unsere Fragestellung überprüft und in entsprechenden Fällen als Volltext erworben.

Zusätzlich zu den die Fragestellung betreffenden Texten wurden anschließend die „related articles“ durchsucht und eingeschätzt - bei passenden Artikeln wurde wie oben erwähnt vorgegangen.

Des Weiteren wurden im Hinblick auf Richtlinien die Internetseiten der WHO <http://www.who.int/en/>, des Robert Koch-Institutes <http://www.rki.de/>, der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde <http://www.dgzmk.de/>, der Bundeszahnärztekammer <http://www.bzaek.de/>, des Department of Health <http://www.dh.gov.uk/en/index.htm>, der British Dental Association <http://www.bda.org/>, der Centers of Disease Control and Prevention <http://www.cdc.gov/>, des Spongiform Encephalopathy Advisory Committee <http://www.seac.gov.uk/>, des National Health Service of Scotland <http://www.nhsnss.org/> und des New South Wales Health Departments <http://www.health.nsw.gov.au/> auf Informationen untersucht.

Literaturrecherche PubMed:

		Results	Relevant	Related/ Relevant
# 1	hygiene AND instruments AND endo*			
# 2	instruments AND samples	98		
# 3	No.2 AND endodontic	9	1	1
# 4	No.3 NOT surgery	13		
# 5	used instruments AND endodontic	938		
# 6	No.5 AND microscopy	154	6	1
# 7	endodontic instruments AND debris NOT smearlayer	34	4	1
# 8	re-usable instruments AND general dental practice	3	1	
# 9	No.8 AND sterilization procedures	2		
#10	No.5 AND debris	16		

#11	No.5 AND debris NOT preparation	2		
#12	No.5 AND contamination	27		
#13	reprocessed files AND dental office OR general dental practice	630		
#14	No.3 AND endodontic	84		
#15	protein AND traces AND instruments	30		
#16	residual protein AND instrument AND sterile	8	4	
#17	all culture broth	117	4	
#18	No.1 AND endo*	1		
#19	microorganism AND endo*	43	0	
#20	No.19 AND instrument	0		
#21	oral microorganism AND instrument	0		
#22	oral microorganism AND sterilisation	5	1	33/0
#23	sterilisation AND microorganism	139	2	
#24	sterilisation AND microorganism AND instrument	3		
#25	oral microorganism AND brain heart infusion	1	1	137/4
#26	brain heart infusion broth	709	0	
#27	brain heart infusion broth AND file	3	1	
#28	brain heart infusion broth AND oral microorganism	1	1	
#29	brain heart infusion broth AND root canal	37	5	
#30	No.29 NOT antimicrobial	18	3	
#31	endodontic file AND microorganism	0		
#32	microbial contamination AND files	6	3	205/15
#33	protein AND traces AND instruments	0		
#34	protein AND dental instruments	60	10	10
#35	protein AND contaminated files	2	2	
#36	bio rad assay	6	0	
#37	bio rad protein assay	4	2	
#38	detection AND protein	603	0	
#39	endodontic files AND protein	6	4	
#40	endodontic files AND contamination	31	9	

Literaturrecherche Google Scholar:

		Results	Relevant	Related
# 1	endodontic files AND contamination	654	12	
# 2	luria bertrani broth AND endodontic instruments	8	1	
# 3	luria bertrani broth AND oral hygiene	256		
# 4	luria bertrani broth AND endo*	47	2	
# 5	brain heart infusion	170.000		
# 6	No.5 AND endodontic files	308	4	
# 7	all culture broth AND endodontic instruments	1580		
# 8	No.7 AND hygiene AND endodontic instruments	640		
# 9	broth AND hygiene AND endodontic instruments AND sterilisation	15		
#10	sterilisation AND endodontic instruments AND hygiene AND bacterial broth	18		
#11	brain heart infusion broth AND oral microorganism	7020		
#12	#11 AND files	700		
#13	#12 AND endo* files	153	4	

2.2. Hygiene endodontischer Instrumente

2.2.1. Nachweis von Rückständen auf endodontischen Instrumenten

2.2.1.1. Rückstände auf verpackungsneuen Instrumenten

Zahlreiche Untersuchungen zur Sauberkeit von fabrikneuen endodontischen Instrumenten wurden veröffentlicht. In einer Veröffentlichung von Eggert et al. zeigten sich auf 4 von 22 Lightspeed Instrumenten nach der Entnahme aus der Verpackung unter einem Rasterelektronenmikroskop variable Mengen an Rückständen in den Spanräumen (1999).

Auch Filho et al. wiesen in ihrer Untersuchung Verunreinigungen auf endodontischen Feilen nach. Sie untersuchten 40 fabrikneu verpackte Instrumente (20 Nickel-Titan- und 20 Edelstahl-Instrumente) unter einem Rasterelektronenmikroskop und fanden auf allen Feilen Partikel und metallische Späne aus dem Herstellungs- und Verpackungsprozess vor. Nach Säuberung im Ultraschallbad - einerseits mit einer Reinigungslösung, andererseits mit Aqua dest. für 15 Minuten - wurden die Feilen re-evaluiert. Die Nickel-Titan-Feilen wiesen vor der Reinigung im Ultraschallbad stärkere Verschmutzung als die Edelstahlinstrumente auf. Die Ergebnisse zeigten, dass die Reinigung im Ultraschallbad insgesamt effektiv war, wobei aber kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Behandlung mit Aqua dest. oder mit einer Reinigungslösung ersichtlich wurde. Es empfiehlt sich daher, endodontische Instrumente vor der klinischen Inbetriebnahme zu säubern und zu sterilisieren (2001).

Van Eldik et al. untersuchten in einem Experiment unter anderem unbenutzte Nickel-Titan- und Edelstahlinstrumente. Hier fiel auf, dass alle Instrumente unter dem Rasterelektronenmikroskop Rückstände zwischen den Schneiden offenbarten und dass die Nickel-Titan-Feilen einen statistisch signifikant kleineren Anteil an sauberen Oberflächen aufwiesen als die untersuchten Hedströmfeilen. Auch innerhalb ihrer Testgruppen ließen sich bei den Nickel-Titan-Instrumenten im Gegensatz zu den Edelstahlinstrumenten signifikante Unterschiede bezüglich ihrer Sauberkeit auffinden (2004b).

Weitere 120 fabrikneu verpackte endodontische Instrumente wurden ebenso unter einem Rasterelektronenmikroskop betrachtet und wiederum zeigten sich auf allen Instrumenten organische und metallische Rückstände. Zwar erschienen die Instrumente bei 45facher Vergrößerung sauber, bei 150facher

Vergrößerung aber waren wenige zufällig verteilte Rückstände zu erkennen. Zwischen den verschiedenen getesteten Herstellern war kein statistisch signifikanter Unterschied ermittelbar (Zmener & Speilberg 1995).

Parashos et al. begutachteten 36 Feilen, die direkt aus der Verpackung entnommen und in van Gieson-Lösung eingetaucht wurden. Bei Betrachtung mit bloßem Auge erschienen diese Instrumente sauber, nach Untersuchung bei 15- bis 45facher Vergrößerung unter dem Mikroskop hingegen zeigten sie, dass alle 36 Feilen ungefärbtes Material und sechs davon zusätzlich leicht gefärbte Rückstände aufwiesen. Diese Ergebnisse betrafen ein Paket Instrumente, welches von dem Hersteller als „steril, individuell verpackt und fertig zum Gebrauch“ gekennzeichnet worden war. Sowohl komplett saubere als auch leichte ungefärbte Rückstände wurden in dieser Studie als „sauber“ angesehen (2004).

Fünzig maschinelle Aufbereitungsinstrumente der Größen 20, 25 und 30 von fünf verschiedenen Herstellern wurden auf Sauberkeit direkt nach ihrer Entnahme aus der Verpackung bei 160facher Vergrößerung untersucht. Mit Ausnahme der ProFile-Instrumente wurde auf 100% der Proben der übrigen Hersteller Ablagerungen festgestellt – bei ProFile lag der Wert bei 96,3% (Chianello et al. 2008).

2.2.1.2. Rückstände auf artifiziell kontaminierten Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden

In manchen Experimenten wurden Feilen artifiziell kontaminiert. Dies geschah entweder durch Aufbereiten von extrahierten Zähnen oder durch Verunreinigen der Instrumente mit menschlichen Gewebsresten oder Blut.

192 endodontische Feilen der Größen 15 bis 40 wurden durch die Erweiterung von Wurzelkanälen extrahierter Zähne kontaminiert. Diese wurden anschließend in Testgruppen eingeteilt, um zu untersuchen, ob die Art der Halterung in einem Thermodesinfektor die Säuberung beeinträchtigt. Es zeigte sich hier unter einem Lichtmikroskop bei einer 45fachen Vergrößerung, dass keine der Feilen durch alleinige Reinigung in einem Thermodesinfektor vollständig gesäubert werden konnte und dass die Feilen, die lose in einem Drahtkörbchen gereinigt worden waren, signifikant sauberer waren als solche, welche in einem Halter aufbereitet wurden (Assaf et al. 2008).

Um wirksame Sequenzen und Kombinationen von Reinigungsmethoden für endodontische Feilen und Reamer zu entwickeln, kontaminierten Linsuwanot et al. Wurzelkanalinstrumente vorab in extrahierten Zähnen. Es wurde trockene oder feuchte Lagerung, mechanische Säuberung mit einer Bürste oder chemisches Auflösen in 1%igem NaOCl in Kombination mit einem Ultraschallbad getestet. Nach einer Färbung mit van Gieson-Lösung wurden die Feilen unter einem Mikroskop bei 45facher Vergrößerung ausgewertet. NaOCl mit Ultraschallbad konnte im Gegensatz zum manuellen Bürsten den organischen Film auf den Instrumenten entfernen. Trockene Lagerung vor der Säuberung oder dem Autoklavieren reduzierte die Effektivität der Reinigung – die maximale biologische Kontamination lag bei 52% im Gegensatz zu feuchter Lagerung mit einem Wert von 31%. Eine Kombination aus Bürsten, Einlegen in 1%iges NaOCl und Ultraschallbad erzielte hingegen optisch saubere Instrumente (maximale biologische Kontamination von 0,0%). Vollständig sauber waren hier 17 von 20 Feilen, während geringe Mengen von ungefärbten, vermutlich anorganischen Rückständen auf 3 Feilen zu finden waren (2004).

Murgel et al. untersuchten in ihrer Studie mehrere Säuberungsmethoden vor der Sterilisation. 110 endodontische Feilen wurden durch das Aufbereiten von 40 extrahierten Zähnen kontaminiert und anschließend entweder mit Gaze (getränkt in Alkohol), mit einem Schwamm (getränkt in Alkohol) oder in einem Ultraschallbad gesäubert. Keine dieser Methoden zeigte unter einem Rasterelektronenmikroskop eine vollständige Säuberung der Instrumente. Der in Alkohol getränkte Schwamm erwies sich als am wenigsten effektiv, während die Reinigung durch getränkte Gaze oder Ultraschallbad keinen statistisch signifikanten Unterschied ergab (1990).

Der Reinigungseffekt von Ultraschall (mit oder ohne perforierten metallischen Container), einem Thermodesinfektor und vollständig fehlender Aufbereitung wurde in einer weiteren Studie an Hedströmfeilen und maschinellen Aufbereitungsinstrumenten überprüft. Die Säuberung im Ultraschallbad ohne Container erwies sich als einzige der Methoden als signifikant effektiver. Hierbei wurden im Mittelwert 98,33% saubere Flächen erzielt. Die Reinigung im Thermodesinfektor bewirkte, dass 88,57% der Instrumentenflächen sauber waren, während das Ultraschallbad in Kombination mit einem perforierten Container nur 80,68% der Flächen verlässlich reinigte (Van Eldik et al. 2004b).

Die Reinigungsfähigkeit eines Ultraschallbads wurde auch in einem weiteren Experiment mit der Reinigungsfähigkeit eines Thermodesinfektors verglichen. Je 36 endodontische Instrumente, kontaminiert durch die Aufbereitung von Wurzelkanälen extrahierter Zähne, wurden den beiden Reinigungsmethoden unterzogen, anschließend sterilisiert und unter einem Mikroskop ausgewertet. Feilen aus dem Ultraschallbad wiesen signifikant weniger Rückstände auf als solche aus dem Thermodesinfektor. Insgesamt konnte keine der beiden Aufbereitungsmethoden in Kombination mit Sterilisation zu einer vollständigen Entfernung der organischen Rückstände führen. Dies deutet darauf hin, dass endodontische Feilen und Reamer nach Aussage der Autoren als Einweginstrumente Verwendung finden sollten (Perakaki et al. 2007).

Eggert et al. testeten in einer Untersuchung Lightspeed-Instrumente, welche vorab artifiziell durch das Aufbereiten von extrahierten Zähnen kontaminiert wurden. Es wurde ermittelt, dass 54,5% (14 von 22) nach vollständiger Aufbereitung mit Ultraschall und Sterilisation noch Rückstände in ihren Spanräumen aufzeigten (1999).

Parashos et al. bereiteten mit Nickel-Titan-Feilen extrahierte Zähne auf, bis eine Verschmutzung der Instrumente sichtbar war. Anschließend wurden die Feilen durch eine Kombination von Reinigungsvorgängen gesäubert. Es wurde festgestellt, dass kein Reinigungsverfahren alleine saubere Instrumente gewährleisten, sondern sequentielles Hinzufügen von unterschiedlichen Prozessen erst 100% Dekontamination garantierte. Zudem sollte jede Komponente des Protokolls – sowohl die mechanischen als auch die chemischen – hinreichend lange angewendet werden. Die besten Ergebnisse wurden in der Studie mit einer Kombination aus 10 mal Wischen mit einem in 0,2% CHX getränkten Schwamm, 30 Minuten Einweichen in einem enzymatischen Reiniger (hier: EmPower), 15 Minuten in diesem Reiniger im Ultraschallbad Säubern und abschließend 20 Sekunden mit Leitungswasser Abspülen. Im Vergleich fiel auf, dass die Resultate stärker durch die Anzahl des Wischens und die Dauer des Einweichens beeinflusst wurden als durch die übrigen Parameter (2004). Bezüglich des Einlegens der Instrumente in einen enzymatischen Reiniger bestehen in der Literatur Uneinigkeiten: Auch Sanchez et al. beurteilen den Nutzen eines enzymatischen Reinigers positiv (1995), während andere Autoren den ausschlaggebenden Nutzen im Ultraschallbad

sehen unabhängig davon, ob ein enzymatischer Reiniger oder Aqua dest. gebraucht wurde (Filho et al. 2001, Marending et al. 1998, Zmener & Spielberg 1995).

2.2.1.3. Rückstände auf am Patienten genutzten Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden

Im Rahmen der Wiederverwendung von Instrumenten ist der wichtigste Schritt deren Säuberung vor dem eigentlichen Inaktivierungsprozess, um das Risiko einer Übertragung von Krankheiten zu senken (Keogh & Flint 2004). Ausgiebiges manuelles Säubern sollte von einer speziell zuständigen Person gewissenhaft ausgeführt werden (Segall et al. 1977). Die Aufbereitung, bestehend aus Säuberungsprozessen, gefolgt von Desinfektions- und Sterilisationsvorgängen, sollte die Infektiosität eliminieren (Rutala & Weber 2001).

Marending et al. untersuchten 108 Lightspeed-Instrumente unter einem Rasterelektronenmikroskop. Die Feilen entstammten einerseits einer privaten Praxis, welche sie nach Aufbereitung von je zwanzig Wurzelkanälen entsorgte, und andererseits einer spezialisierten Fakultät, in der die großen Größen der Instrumente nach maximal 54 Wurzelkanalbehandlungen, kleinere Größen nach circa 18 Behandlungen entsorgt wurden. Es ließen sich zwischen 9% bis 81% an Ablagerungen in den Spanräumen ermitteln. Es zeigte sich ein häufigeres Vorkommen von Mikrofrakturen und Rissen auf den Instrumenten der Fachklinik als bei der privaten Zahnarztpraxis (1998).

Am Patienten verwendete endodontische Instrumente wurden nach verschiedenen Reinigungsprozessen mit einem Mikroskop auf Rückstände untersucht. Entweder wurden die Feilen in einen enzymatischen Reiniger eingelegt und anschließend im Ultraschallbad unterschiedlich lange (5, 10, 30 oder 60 Minuten) gesäubert oder auf das Einlegen wurde verzichtet. Hinzu kamen zwei Kontrollgruppen, von denen in der einen die Instrumente eingelegt, aber nicht im Ultraschallbad gesäubert wurden und in der anderen die Instrumente weder eingelegt noch im Ultraschallbad gereinigt wurden. Im Anschluss erfolgte die Autoklavierung aller Testfeilen sowie der Kontrollgruppen. In der Auswertung zeigte sich, dass das Einlegen der Feilen keine signifikante Auswirkung auf die Sauberkeit der Instrumente hatte. Der

Nutzen des Ultraschallbads zeigte sich im Vergleich der Testgruppe mit den nicht gereinigten Kontrollen deutlich. Zudem wurde festgestellt, dass eine Verlängerung der Ultraschalldauer über 5 – 10 Minuten keinen Vorteil mit sich brachte (Aasim et al. 2006).

Linsuwanont et al. testeten ein neu erarbeitetes Reinigungsprotokoll (feuchte Lagerung, manuelles Säubern mit Bürste, Einweichen in 1% NaOCl und Ultraschallbad) in drei endodontischen Praxen. In der ersten Phase wurden Instrumente, die auf herkömmliche Weise in den Praxen aufbereitet worden und fertig zum erneuten Gebrauch waren, nach Färbung mit van Gieson-Lösung unter einem Mikroskop begutachtet. Hierbei fanden sie nur 3 der 30 Instrumente sauber vor. In der zweiten Phase wurden Instrumente entsprechend des neuen Protokoll gereinigt und waren nun zu 87% (52 von 60) sauber (2004).

Zwei weitere Studien prüften endodontische Instrumente, die in Praxen aufbereitet worden waren und bereit für die erneute Behandlung gelagert wurden.

Aus 25 zahnärztlichen Praxen wurden insgesamt 250 Instrumente unter einem Mikroskop und mit dem Kastle-Meyer-Test für den Blutnachweis untersucht. Zwei Drittel zeigten sichtbare Rückstände und bei 7% fiel der Test auf Blut positiv aus (Letters et al. 2005).

Aus einer privaten zahnärztlichen Praxis und aus einer Zahnklinik wurden in einer anderen Untersuchung die endodontischen Instrumente unter einem Licht- und einem Rasterelektronenmikroskop beurteilt. In der Praxis wurden die Feilen manuell mit einer Bürste gesäubert und autoklaviert, welches zu sichtbaren Rückständen auf 76% der Testfeilen führte. Die Aufbereitung in der Zahnklinik bestand aus Einweichen in einem Reiniger im Ultraschallbad für 6 Minuten und zweimaligem Autoklavieren. Hier waren noch 14% aller Instrumente kontaminiert (Smith et al. 2002).

2.2.2. Fragebögen zur Hygiene in zahnärztlichen Praxen

In vorangegangenen Studien wurde mithilfe von Fragebögen ein Einblick in die Hygiene und Aufbereitungsmethoden zahnärztlicher Praxen gegeben.

Lowe et al. konnten feststellen, dass 92% der Zahnarztpraxen in Schottland ihre Angestellten in Dekontaminationsmethoden schulten und 54% hiervon dies

persönlich vornahmen. 59% nutzten zur Reinigung ein Ultraschallbad, keine Praxis nutzte einen Thermodesinfektor und über 99% einen Dampfautoklaven (2002).

Eine weitere Studie zeigte, dass 90% der Praxen das Training der Angestellten am Sterilisator nicht dokumentierten. Auch die Trennung zwischen Säuberungs- und Verpackungsbereich sowie Behandlungsbereich, Dekontaminationsbereich und Lagerungsbereich der sterilen Gebrauchsmaterialien war sowohl unzureichend definiert als auch räumlich getrennt. 84% der Instrumente wurden in Schubladen gelagert, während 32% aller Befragten die Aufbewahrung auf Regalen und wiederum 34% die Lagerung auf Arbeitsflächen vorzogen (Smith et al. 2007).

An der Ostküste der USA demonstrierten Gurevich et al., dass, obwohl für endodontische Instrumente ein hoher Hygienestandard gefordert werden muss, nur 53% der Befragten die Feilen und Reamer autoklavierten. 35% benutzten chemische Sterilisation, 4% Desinfektion (gefolgt von chemischer Sterilisation) und 6% behandelten diese als Einweginstrumente. Insgesamt wurden nur 68% der Instrumente sterilisiert, die eigentlich hätten sterilisiert werden müssen (1996).

Auch 2005 beschrieb eine Studie in Großbritannien Aufbereitungsprozesse und Hygiene in Zahnarztpraxen. Keiner der Befragten nutzte endodontische Instrumente als Einwegmaterial. 84% gaben an, dies aus Kostengründen zu vermeiden, 12% waren der Meinung, dass es nicht nötig sei, die Feilen nach jedem Patienten zu wechseln. Die zwei häufigsten Dekontaminationsmethoden waren manuelle Säuberung und Autoklavieren oder manuelle Säuberung, Ultraschallbad und Autoklavieren. 92% der Befragten entsorgten beschädigte endodontische Instrumente (Letters et al. 2005). Ob die restlichen 8% der Feilen nicht überprüft oder einfach weiter verwendet wurden, ist nicht dokumentiert.

Nach einer Befragung von 179 Praxen durch Gutachter kam man zu dem Resultat, dass die Säuberung zum größten Teil von Zahnarthelferinnen durchgeführt wurde. Zusätzlich gaben 37% an, einen Hygienebeauftragten zu beschäftigen, und nur 7% der Praxen hatten einen einzelnen Mitarbeiter, der lediglich für die Dekontamination zuständig war. In 10% der Fälle wurde das regelmäßige Training der Mitarbeiter dokumentiert. Zwar war in über der Hälfte

der Praxen eine Reihenfolge von kontaminiert zu steril erkennbar, doch war eine Trennung zwischen den Arealen „verschmutztes Material“ oder „sauberes Material“ verbesserungswürdig. 96% reinigte manuell, keine der Praxen benutzte einen Thermodesinfektor, aber 92% nutzten ein Ultraschallbad zur Dekontamination. 85% der Praxen untersuchte aufbereitete Instrumente regelmäßig auf Rückstände, wovon sich nur 1% einer Vergrößerungshilfe bediente. Auffällig war auch, dass 74% der Zahnarthelferinnen und 54% der Zahnärzte das Symbol für „Einweg“ nicht erkannten und ebenfalls 75% der Helferinnen und 57% der Zahnärzte das Verfallsdatum nicht beachteten. 80% der Praxen verwendeten endodontische Feilen und Reamer als Mehrweginstrumente (Bagg et al. 2007).

2.2.3. Risikoeinschätzung von endodontischen Instrumenten

Die Geometrie von endodontischen Feilen erschwert eine ausreichende Erreichbarkeit der Rückstände und somit eine vollständige Dekontamination dieser Instrumente (Heeg et al. 2001). Die auf den Instrumenten befindlichen organischen Rückstände lassen sich zum Beispiel mit van Gieson-Lösung anfärben und somit quantitativ leichter einschätzen. Rückstände, welche sich nicht mit dieser Lösung einfärben lassen, können mehrere Ursprünge haben: von Herstellungs- und Verpackungsprozessen, aber auch von der Säuberungsmethode selbst. Da bei diesen Ablagerungen keinerlei biologische Herkunft erkennbar war (oder sie zumindest nicht mit van Gieson-Lösung angefärbt werden konnten), besteht im Falle von anorganischen Rückständen kein Grund sie als potentiell infektiös einzustufen (Linsuwanont et al. 2004). Martins et al. wiesen mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDS) karbon- und sulfithaltige Rückstände auf endodontischen Instrumenten nach. Es wurde vermutet, dass die Ablagerungen möglicherweise von Schmierölen aus dem Herstellungsprozess stammten. Dieses Material auf den Feilen steigerte aber die nachfolgende Kontamination während des klinischen Gebrauchs. Zusätzlich konnten Calcium und Phosphor, welche ihren Ursprung im Dentin hatten, nachgewiesen werden (2002).

Die angewendeten Methoden zur Desinfektion und Sterilisation endodontischer Instrumente in zahnärztlichen Praxen scheinen derzeit auf einem unzureichenden Niveau zu sein (Smith et al. 2002). Auch weitere Studien

zeigten auf, dass die gebräuchlichen Methoden nicht zu den gewünschten Ergebnissen führten (Lewis et al. 1992, Linsuwanot et al. 2004, Letters et al. 2005). Aasim et al. gaben zu bedenken, dass die unzureichende Säuberung der Instrumente trotz nachfolgender Desinfektion beziehungsweise Sterilisation ein potentiell Risiko für Kreuzinfektionen berge und dies die Auffassung unterstütze, endodontische Feilen als Einweginstrumente anzuwenden (2006). Parashos et al. vertraten 2004 hingegen noch die Ansicht, dass durch ein simples Reinigungsprotokoll endodontische Instrumente zu 100% dekontaminiert werden können (2004). Die Aufgabe der Zahnarzthelferinnen und –helfer spielt betreffend der Hygienerichtlinien und Kontrollen eine wichtige Rolle, doch erwies sich das Befolgen der Richtlinien speziell innerhalb dieser Gruppe als ausbaufähig. Ein großer Prozentsatz scheint sich aber zumindest an die Richtlinien für das Autoklavieren von Handinstrumenten zu halten (Gordon et al. 2001). Ideal erscheint es, wenn der Dekontaminationsprozess von einer Person innerhalb der Praxis durchgeführt wird. Prinzipien der Qualitätssicherung sollten angewendet werden, Richtlinien sollten auf dem neuesten Stand schriftlich vorhanden und einsehbar sein und die Methoden regelmäßig kontrolliert und dokumentiert werden (Bagg et al. 2007).

2.3. Bakterien

2.3.1. Bakterien im Wurzelkanalsystem

Die Anzahl von Mikroorganismen in infizierten Wurzelkanälen kann von 10^2 bis hin zu mehr als 10^8 variieren (Sjögren et al. 1991).

Fabricius et al. führten eine Studie durch, um die Bakterienflora von infizierten Wurzelkanälen zu untersuchen. Hierzu devitalisierten sie die Pulpen von 24 Wurzelkanälen bei Affen (acht Pulpen an jeweils drei Versuchstieren), setzten sie eine Woche der Mundflora aus und verschlossen sie wieder. Nach einer Woche entnahmen sie aus 16 Pulpen (von 2 Affen) initiale Proben. Die Wurzelkanäle des dritten Affen (finale Proben) wurden nachfolgend nach 90, 180 sowie nach 1060 Tagen untersucht. Hier wurden Proben jeweils aus drei verschiedenen Anteilen des Kanals entnommen. Im apikalen Anteil des Kanals dominierten obligat anaerobe, nicht sporenbildende Bakterien, zu 85-98% Anaerobier. Die am häufigsten gefundenen Spezies waren *Bacteroides* und

gram-positive anaerobe Stäbchen sowie eine geringere Anzahl von fakultativ anaeroben Bakterien (1982).

Zu den in Wurzelkanälen häufig anzutreffenden Bakterien zählt *Enterococcus faecalis*, welcher als Testkeim für die antimikrobielle Wirkung von verschiedenen NaOCl-Konzentrationen sowie Instrumentiertechniken verwendet wurde (Berber et al. 2006). Auch zwei weitere Untersuchungen wiesen *E. faecalis* in Wurzelkanälen nach. Pinheiro et al. untersuchten mikrobiologische Proben aus zuvor gefüllten Wurzelkanälen mit persistierenden periapikaler Läsionen und fanden zu 57,4% fakultativ anaerobe Mikroorganismen vor, unter denen *E. faecalis* am häufigsten isoliert wurde (2003). In einer Studie von Peciulienė et al. wurde das Auftreten und die Rolle von Hefen, enterischen gram-negativen Stäbchen (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* und *Proteus mirabilis*) sowie *E. faecalis* in wurzelkanalgefüllten Zähnen mit chronischer apikaler Periodontitis untersucht. *E. faecalis* wurde auch hier als häufigster Keim (21 von 33 Proben positiv) festgestellt (2001).

Eine Wurzelkanalinfektion wurde durch die zwei obligat anaeroben Bakterien *Fusobacterium nucleatum* und *Porphyromonas gingivalis* sowie durch den fakultativ anaeroben *Streptokokkus mutans* zum Test des Reinigungseffektes verschiedener Dekontaminationsmethoden vorgenommen. Endodontische Instrumente wurden durch Aufbereiten der Wurzelkanäle kontaminiert und anschließend entweder ungesäubert, nach Ultraschallbad, nach Thermodesinfektor, nach Säuberung in Kombination mit Dampfsterilisation, nach Ultraschallbad mit Dampfsterilisation oder nach Thermodesinfektor zusammen mit Autoklavieren mit Hilfe eines Blutagars auf mikrobiologisches Wachstum untersucht (siehe Punkt 2.3.2.) (Van Eldik et al. 2004a). Zu den Bakterien, die mit einer Pulpitis assoziiert werden, gehören *Eubacterium*, *Peptostreptokokkus*, *Fusobakterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Streptokokkus*, *Lactobacillus*, *Wolinella* und *Actinomyces* (Baumgartner & Falkler 1991, Sundqvist et al. 1989).

2.3.2. Wachstum von Bakterien auf endodontischen Instrumenten

Gnau et al. platzierten endodontische Feilen für jeweils 0, 1, 2 oder 5 Minuten in 6%igem NaOCl, um die eventuell noch vorhandenen Bakterien dann in einem Thyoglykolat-Nährmedium anzuzüchten. Neue Feilen, welche nicht in NaOCl

einggelegt worden waren, wiesen eine mikrobielle Kontamination von 6% auf. Die Dauer des Einlegens bewirkte bei der Auswertung keinen signifikanten Unterschied und es konnte in keinem der Fälle eine vollständige bakterielle Dekontamination gewährleistet werden. Es wurde vermutet, dass dies im Zusammenhang mit Mikrofrakturen oder Rissen auf den Instrumenten stehe, welche Bakterien beherbergten und sie für das Reinigungsmittel unerreichbar machten, oder dass das Auftreten von Luftbläschen in der Lösung den direkten Kontakt von NaOCl zur Oberfläche verhinderte. Die einzig zuverlässige Methode zur bakteriellen Dekontamination sei Autoklavieren (2009).

Van Eldik et al. untersuchten in einer Studie die Präsenz von Mikroorganismen auf endodontischen Instrumenten nach deren Aufbereitung. Insgesamt 210 Hedström- und maschinelle Feilen wurden auf unterschiedliche Arten vorbehandelt. Auf fabrikneu verpackten Instrumenten wurden keinerlei Mikroorganismen festgestellt. Zur Kontamination der Feilen wurden Bakterien in einem Nährmedium angezüchtet und dieses mit einer sterilen Spritze in Wurzelkanäle extrahierter Zähne gefüllt. Anschließend konnten die Kanäle mit den endodontischen Instrumenten aufbereitet werden. Unabhängig von der Säuberungsart befanden sich nach Dampfautoklavierung keine Bakterien mehr auf den Testfeilen. Bei weiteren Testgruppen wurde insbesondere die Dekontamination im Ultraschallbad mit der Dekontamination im Thermodesinfektor verglichen. Hier zeigten sich hinsichtlich des Tapers, der Größe oder der Art der Feilen keine signifikanten Unterschiede. Letztlich bewirkte der Thermodesinfektor aber eine zuverlässigere Dekontamination – von 30 Instrumenten zeigte eines aus dem Thermodesinfektor und 17 aus dem Ultraschallbad ein positives Ergebnis. Dies steht mit der Wirkungsweise der beiden Methoden im Zusammenhang. Ein Thermodesinfektor bewirkt auf zwei verschiedene Arten die Dekontamination der Instrumente: Einerseits kommt es zu einer Dampfeinwirkung und andererseits führt die Betriebstemperatur von 93°C, welche über 10 Minuten aufrecht erhalten wird, zu einer Hitzeinaktivierung. Die Dekontamination im Ultraschallbad geschieht dagegen durch die Wirkung der chemischen Lösung (2004a) und durch physikalische Entfernung von biologischen Rückständen durch die Ausbreitung der Schallwellen in dem mit Flüssigkeit gefüllten Behälter (Watmough 1994).

Roth et al. stellten in ihrer Studie auf 12,7% von fabrikneu verpackten Instrumenten mikrobiologisches Wachstum in einem Nährmedium (Brain Heart Infusion Broth) fest. Bei artifiziell kontaminierten Instrumenten, welche entsprechend ihres Types und Herstellers in Gruppen geordnet wurden, beinhalteten 7 der 15 Gruppen (46,7%) jeweils mindestens ein positives Instrument. Dementsprechend ist es nötig, die Feilen vor der Ingebrauchnahme zu säubern und zu sterilisieren. Im Anschluss wurde der Einfluss der Einwirkdauer von 5,25%igem NaOCl auf die Dekontamination der artifiziell kontaminierten Instrumente direkt am Arbeitsplatz getestet und festgestellt, dass ein Zeitraum von mindestens 5 Minuten die gewünschte chemische Sterilisation bewirkte (2006).

Morrison et al. untersuchten die Sterilität von endodontischen Feilen, welche einerseits in zahnärztlichen Praxen in Gebrauch gewesen und andererseits fabrikneu verpackt waren. Die Instrumente aus den Praxen wurden nach ihrer Benutzung gesäubert, in ein Desinfektionsmittel eingelegt und hitzesterilisiert (30 Minuten, 149°C). Hiernach zeigte sich 58% bakterielles Wachstum auf den Feilen. Als Problem wurde weniger die Art der Sterilisation, sondern die vorangegangene Säuberung der Instrumente gesehen. 45% der fabrikneu verpackten Instrumente wiesen nach Anzüchten in einem Nährmedium ebenso eine bakterielle Kontamination auf (2009).

In einer weiteren Studie wurde die Wirksamkeit von Dekontaminationsmethoden anhand von sechs Testgruppen à 15 Feilen untersucht. Es kamen zum Beispiel Eintauchen in Glutaraldehyd, Dampfautoklavieren oder verschiedene Salzsterilisationstechniken zum Einsatz. Als Testkeim diente *Bacillus stearothermophilus*. Dies führte zu dem Ergebnis, dass nur Autoklavieren eine ausreichende Inaktivierung garantieren konnte (Hurt & Rossman 1996).

Heeg et al. verglichen den Effekt von Gassterilisation mit dem von Dampfsterilisation auf Einweginstrumente in einem Krankenhaus. Für die Gassterilisation nutzten sie den Testkeim *Bacillus subtilis* var niger und für die Dampfsterilisation *Bacillus stearothermophilus*. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass weder die eine noch die andere Methode zu einer vollständigen bakteriellen Dekontamination von Einweginstrumenten führte, wohl aber die Anzahl der Keime deutlich verringert wurde (2001).

2.3.3. Risikoabschätzung

Es kann nicht angenommen werden, dass fabrikneu verpackte endodontische Instrumente steril sind, sofern keine entsprechende Kennzeichnung vorliegt. Wenn die Packung nicht vollständig verschweißt ist, besteht ein potentielles Risiko der Kontamination (Van Eldik et al. 2004a). Roth et al. zeigten in einer Studie, dass annähernd 13% der Wurzelkanalinstrumente direkt aus der Verpackung biologisch kontaminiert sind (2006). Zudem seien diese Ergebnisse eine Unterschätzung der eigentlichen Situation, da lediglich ein Nährmedium zum Anzüchten genutzt wurde und die meisten Bakterienspezies zurzeit im Labor nicht kultiviert werden können (Rappe & Giovannoni 2003).

Es wurde jedoch angenommen, dass biologische Rückstände auf Instrumenten die Sterilisation behindere (Spencer & Perry 2001). Indes zeigten Van Eldik et al., dass die Effektivität der Dampfsterilisation im Zuge der Aufbereitung von medizinischen oder zahnmedizinischen Utensilien in keinem Zusammenhang damit steht, ob die Instrumente im Voraus gereinigt worden waren oder nicht (2004a).

Es sollte trotz allem vermehrt durchgesetzt werden, dass die Hersteller ihre Instrumente sterilisieren und ihre Verpackungen dementsprechend kennzeichnen (Roth et al. 2006).

2.4. Proteine

2.4.1. Vorkommen von Proteinen auf endodontischen Instrumenten und getestete Dekontaminationsmethoden

Bei Verdacht einer Erkrankung an der CJK wird empfohlen, medizinisches und zahnmedizinisches Instrumentarium bis zur definitiven Diagnosestellung in einem Container isoliert zu verwahren und mit persönlichen Daten, Art der Behandlung und Namen des behandelnden Arztes zu kennzeichnen. Bei bestätigten „high-risk“-Patienten seien die Instrumente zu vernichten (Palacios-Sanchez et al. 2007, Porter 2003). Auf der Basis von wissenschaftlichen Untersuchungen lässt sich festlegen, dass nur kritische (zum Beispiel Operationsinstrumente) und semikritische Geräte sowie Instrumente, welche mit „high-risk“-Gewebe (Gehirn, Rückenmark und Augengewebe) von „high-risk“-Patienten mit bestätigter oder vermuteter Infektion in Kontakt gekommen sind, besondere Aufbereitungsmaßnahmen benötigen (Rutala & Weber 2001).

Whitworth et al. untersuchten endodontische Instrumente aus dem klinischen Gebrauch von 12 Zahnarztpraxen. 60 Feilen wurden direkt nach der Benutzung in einen enzymatischen Reiniger gegeben und anschließend in zwei verschiedenen Thermodesinfektoren gesäubert. Von weiteren 150 Instrumenten wurden 60 im Ultraschall, je 30 in den zwei Thermodesinfektoren und die übrigen 30 Feilen als Positivkontrollen getestet. Negativkontrollen stellten fabrikneu verpackte Instrumente dar. Der Nachweis der Proteine wurde mit einem kolometrischen Proteinassay erzielt. 29 von 30 endodontischen Feilen wiesen Proteine mit einem Medianwert der totalen Masse von 2,046µg auf. Als effektivste Säuberungsmethode vor der Sterilisation zeigte sich Einweichen im enzymatischen Reiniger „Alkazyme“ mit anschließender Aufbereitung im Miele Thermodesinfektor G7881 (2009).

Ebenso untersuchten Smith et al. endodontische Instrumente aus 220 Praxen in Schottland auf Proteinrückstände. Zum Untersuchungszeitpunkt waren die Instrumente mindestens einmal zuvor im klinischen Gebrauch gewesen und anschließend vollständig zur erneuten Anwendung aufbereitet. Zum Nachweis der Proteine wurde ein fluoreszierender Assay genutzt. Durch Fragebögen wurden die unterschiedlichen Aufbereitungsmethoden der Praxen ermittelt. Für weitere statistische Analysen wurden zwei Methoden herausgegriffen. Die erste Methode bestand aus manuellem Reinigen (mit verschiedenen Lösungen) in Kombination mit Dampfsterilisation (verwendet von 8 Praxen) und die zweite aus manuellem Säubern (mit unterschiedlichen Reinigern), Ultraschall und anschließender Dampfsterilisation (verwendet von 7 Praxen). Alle getesteten Instrumente wiesen verbliebene Proteine mit einem Median der Menge von 5,4µg und einer Bandbreite mit Werten zwischen 0,5-63,2µg auf. Der Vergleich der beiden Reinigungsmethoden zeigte keine statistische Signifikanz mit Medianwerten von 5,0µg beziehungsweise 5,8µg. Beim Vergleich der Ergebnisse innerhalb der jeweiligen Gruppen wies Methode 1 jedoch, im Gegensatz zu Methode 2, große Unterschiede mit einer Bandbreite von Medianwerten der Praxen zwischen 3,5µg bis 10,8µg auf (2005).

Weitere Dekontaminationsmethoden, speziell im Hinblick auf die Entfernung von Prionen wurden wissenschaftlich untersucht: Ionisierung, UV-Licht und Mikrowellenstrahlen haben nur wenig Effekt auf die Prionen (Taylor 1999). Auch scheinen Prion-Proteine resistent gegen Sterilisationsprozesse mit den

gängigen zahnärztlichen Systemen zu sein (Palacios-Sanchez et al. 2007, Smith et al. 2003, Taylor 1999).

Palacios-Sánchez et al. empfahlen für hitzeresistentes Instrumentarium, welches nicht in Kontakt mit hochinfektiösem Gewebe gekommen ist, Einweichen in Natriumhypochlorit oder Natriumhydroxid bei einer Konzentration von 20000ppm, gefolgt von Autoklavieren bei 134°C-138°C für 18 Minuten oder in sechs sukzessiven 3-Minuten-Durchgängen. Endodontische Feilen sollten hingegen nicht wiederaufbereitet werden, da ihre vollständige Dekontamination nicht gewährleistet werden könnte (2007).

Ernst et al. testeten die Wirkungsweise von verschiedenen NaOH-Konzentrationen und stellten fest, dass zwar eine beträchtliche Reduktion der Infektiosität, aber keine Eliminierung erreicht werden konnte. Die vollständige Entfernung der detektierbaren Infektiosität konnte erst durch eine Kombination von Einweichen in NaOH mit anschließendem Autoklavieren bei 121°C für eine Stunde erzielt werden (Ernst, D. et al. 1993, Taguchi, F. et al. 1991).

Eine Kombination aus manueller Reinigung, gefolgt von Säuberung im Ultraschallbad und nachfolgendem Einweichen der Instrumente entweder in 2M Natriumhydroxid, 6M CH_5N_3 oder 3%igem Natriumhypochlorit, gefolgt von Autoklavierung, zeigte, dass keine Lösung den Schmutz vollständig entfernen konnte. Nach Benutzung von Natriumhypochlorit wurde auf 27,8% der untersuchten endodontischen Instrumente Korrosion festgestellt (Sonntag & Peters 2007). Die WHO beurteilt CH_5N_3 als eine insuffiziente Reinigungsmethode (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000), während aber Everbroeck et al. sie als effizient einstufen (1999).

Entscheidend für die Inaktivierung von Prionen sind nach Keogh und Flint die Reinigungsprozesse vor der eigentlichen Sterilisation, insbesondere der Gebrauch von Ultraschallbad oder Thermodesinfektor (2004). Auch Walker et al. nannten die Anwendung des Thermodesinfektors als wichtigen Schritt bei der Dekontamination von Instrumenten. Dieser ersetze den Vorgang der manuellen Reinigung, was den Vorteil der Zeitersparnis und Reproduzierbarkeit sowie eine Minimierung des Nadelstichverletzungsrisikos mit sich bringe (2007).

2.4.2. Prionen

2.4.2.1. Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Das Augenmerk wurde erstmals 1996 auf diese Erkrankung gelenkt, als in Großbritannien Fälle der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) publik wurden. Im Jahre 2008 waren weltweit insgesamt 180 Erkrankungen gemeldet, 166 bislang als Todesfälle. Die Mehrzahl (157/180) trat in Großbritannien auf (Palacios-Sánchez et al. 2007).

Die Internetseite des Centers for Disease Control and Prevention des Department of Health and Human Services gibt an, dass es einen bedeutsamen epidemiologischen und experimentellen Zusammenhang zwischen der Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit und dem Ausbruch der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie bei Rindern gibt. Der Zeitraum zwischen der wahrscheinlichsten Periode der initialen Aussetzung der Bevölkerung mit BSE-kontaminierten Fleischprodukten (1984-1986) und dem Auftreten von Erkrankungsfällen der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (1994-1996) steht im erkennbaren Zusammenhang mit der Dauer der Inkubationsperiode für humane Formen von Prionen-Erkrankungen <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/bse/>.

Auch ein gemeinsames Konsil, einberufen durch die World Health Organization (WHO), die Food and Agriculture Organization (FAO) und die World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties, OIE), erreichte den wissenschaftlichen Konsens, dass der Verzehr von BSE-kontaminierten Rinderprodukten als Hauptexpositionsweg angesehen werden kann (World Health Organization 2006).

Der Erreger der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist ein infektiöses Prion-Protein (PrP), ein Glykoprotein, welches aufgrund seiner Tertiärstruktur auffällig resistent gegen Aufschlüsselung innerhalb der Zelle ist (Keogh & Flint 2004). Man nimmt an, dass die Umwandlung der ursprünglichen nativen Form, dem zellulären Prion-Protein (Prion Protein cellular/PrP^c), in die alternative Konformation Prion-Protein Scapie (PrP^{sc}) der Schlüssel zur Pathogenität einer ganzen Gruppe von Erkrankungen namens Transmissible Spongiforme Enzephalopathie (TSE) darstellt, deren Prototyp die Traberkrankheit (Scrapie) bei Schafen ist (Schneider et al. 2007).

Im Gegensatz zu den anderen Formen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit bricht die Variante der Erkrankung durchschnittlich im Alter von 26 Jahren (12-74 Jahre) mit einer mittleren Dauer von 14 Monaten (6-40 Monate) aus. Obwohl für die definitive Diagnosestellung neuropathologische Untersuchungen vonnöten sind, wurden klinische und laboratorische Verfahren geschaffen, um die wahrscheinliche Diagnose vCJK am lebenden Patienten stellen zu können. Alle klinisch manifesten Fälle (191 weltweit) wurden homozygot für die Allele, welche für Methionin auf dem Kodon 129 des PRNP Gens kodiert, getestet (World Health Organization 2006). Zurzeit ist die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit eine fatale Erkrankung, die noch keine Aussicht auf Heilungsmethoden oder Bekämpfung durch Impfung hat (Smith et al. 2003).

Verschiedene Studien haben das Vorkommen des Prion-Proteins im menschlichen Körper untersucht. Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit grenzt sich von den übrigen Formen besonders durch die Anwesenheit von PrP^{res} (entspricht dem mit der Erkrankung assoziierten Erreger im Rahmen der Nachweismethoden Elektrophorese und Westernblot) im lymphatischen Gewebe ab (Blanquet-Gossard F. et al. 2000, Ironside et al. 2002, Head et al. 2003). Des Weiteren wurde Infektiosität im Gehirn, zervikalem Rückenmark sowie dem zentralen und peripheren Nervensystem nachgewiesen (Ingrosso et al. 1999). Nicht aufgefunden wurden infektiöse Prion-Proteine hingegen in Herz, Leber, Lunge, Gallenblase, Speicheldrüsen, Ösophagus, Magen, Pankreas, Skelettmuskulatur, Nieren, Nebennieren, Schilddrüse einschließlich der Nebenschilddrüsen, Blase, Haut und in den übrigen Organen des Beckens (Ironside et al. 2002).

Von besonderem Interesse für die Zahnmedizin ist das nachgewiesene Vorhandensein des Erregers im lymphatischen Gewebe, entsprechend also in den Tonsillen vorrangig des Zungengrundes (Blanquet-Gossard F. et al. 2000, Smith & Martin 2000, Ironside et al. 2002, Head et al. 2003). Zudem wurden durch Schneider et al. zelluläre Prion-Proteine in Odontoblasten, Zementoblasten, Nervenfasern und Mallassez'schen Epithelresten aufgefunden (2007).

In Autopsieberichten wurden Prion-Proteine (Proteinase-resistentes Prion-Protein (PrP^{res}) - entspricht dem mit der Erkrankung assoziierten Erreger im Rahmen der Nachweismethoden Elektrophorese und Westernblot) in Geweben

des Gehirns bestätigt. Hingegen wurden keine Anzeichen der Krankheit in den Geweben der korrespondierenden Pulpen gefunden. Auszuschließen ist deren Infektiosität dennoch nicht, da die hier zur Anwendung gekommene Nachweismethode ungefähr drei bis vier Größen weniger sensitiv ist als Bioassays (Blanquet-Gossard F. et al. 2000).

Bedenklich bei der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist das Vorhandensein von Infektiosität auch außerhalb des zentralen Nervensystems, welche das Übertragungsrisiko während medizinischer Eingriffe durch asymptomatische Patienten stark erhöhen könnte (Smith et al. 2003).

Die Übertragung der CJK von Mensch zu Mensch trat nach Implantation von Silberelektroden im Rahmen einer Operation auf. Diese Elektroden waren zuvor in einem infizierten Patienten implantiert gewesen und konnten aufgrund der nicht gegebenen Hitzebeständigkeit nicht autoklaviert werden. Sie wurden vor der Operation mit Benzol und 70%igem Ethanol desinfiziert und für 48 Stunden in Formaldehyddampf sterilisiert. Diese Maßnahmen erwiesen sich als unzureichend (Bernoulli et al. 1977).

Iatrogene Übertragung erfolgte auch nach Dura Mater-Transplantaten (~ 110 Fälle weltweit), nach Korneatransplantaten (3 Fälle, hiervon ein bestätigter, ein wahrscheinlicher und ein möglicher), bei Empfängern von menschlichen Hypophysenhormonen (~130 Fälle weltweit) und durch kontaminierte medizinische Geräte (7 Fälle weltweit, hiervon sind 2 wahrscheinlich und 5 möglich) (Keogh & Flint 2004).

In Tierversuchen werden weiterhin die möglichen Übertragungswege durch medizinische und zahnmedizinische Eingriffe erprobt.

Zobeley et al. zeigten im Tierexperiment, dass direkter Kontakt zum Infizierten nicht vonnöten sei, um sich mit dem Erreger anzustecken, sondern dass die Übertragung bereits über kontaminiertes Material stattfinden kann. Bei dem Versuch dienten Edelstahldrähte als Überträger der Infektion. Diese waren vor der Implantation in Gehirne von Testmäusen mit PrP^{Sc} kontaminiert und nachfolgend mit 10%igem Formaldehyd gewaschen worden. Es ist bislang fraglich, ob die stahlgebundenen Prion-Proteine desorbieren oder ob sie die Infektion im gebundenen Zustand initiieren (1999).

Ingrosso et al. beobachteten bei Hamstern nach intradentaler Inokulation von PrP^{Sc} die Ausbreitung und Entwicklung von Scrapie über den Nervus

Trigeminus. Infektiosität zeigte sich ausschließlich im homolateralen Ganglion Trigeminale. Annahmen zufolge breitet sich die Erkrankung mit circa 1mm/d aus. Auch nach intraperitonealer Inokulation ließ sich in Gingiva und pulpaalem Gewebe der Erreger nachweisen (1999).

In weiteren Untersuchungen entwickelten mehrere Hamster und Versuchskaninchen nach intraperitonealer und intrazerebraler Injektion einer PrP^{Sc} enthaltenden Suspension ebenso die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (Manuelidis et al. 1977).

Barzt et al. stellten fest, dass sich der Erreger, nach einer Infektion der Zunge, retrograd axonal über den Nervus Hypoglossus ins Gehirn ausbreitete. Bereits nach zwei Wochen ließ sich die Erkrankung im Kern des N. Hypoglossus in der Medulla Oblongata nachweisen (2003).

Im Hamstermodell kann die Erkrankung in gingivalem und dentalem Gewebe detektiert werden. Die klinische Aussagekraft dieser Forschungsergebnisse sind aber im Hinblick auf den Menschen fraglich, da bislang in Autopsien keine Erreger in Nervus Alveolaris, Zunge, Pulpa, Gingiva oder Speicheldrüsen gefunden wurden (Keogh & Flint 2004).

2.4.2.2. Risiko der Übertragung der CJK durch endodontische Therapie

Die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit wird nicht durch direkten Kontakt, über Tröpfcheninfektion oder aerogen übertragen, sondern resultiert aus Inokulation, Implantation oder Transplantation infektiösen Materials, entweder intrazerebral oder peripher (Rutala & Weber 2001).

In der Zahnmedizin werden zwei vorrangige Übertragungswege diskutiert: einerseits durch Abrasion der Tonsillen im Bereich des Zungengrundes - welches als eher unwahrscheinlich eingestuft wird - und andererseits durch den Kontakt von endodontischen Instrumenten mit Pulpagewebe (Department of Health; Economics and Operational Research Division (EOR4) 2003).

2003 veröffentlichte die Economics and Operational Research Division des Department of Health des Vereinigten Königreiches eine Studie über die Übertragungswahrscheinlichkeit der Variante der CJK in der Zahnmedizin. Die errechneten Szenarien der zwei Übertragungswege sind rein hypothetisch in der Annahme, eine Infektiosität bestehe. Bei Abrasion der lingualen Tonsillen, welche laut Fragebögen in der zahnärztlichen Praxis circa einmal in 100.000

Fällen auftritt, lassen sich zwei Szenarien differenzieren, welche zur Infektion führen können: die Abrasion bei einem infizierten Patienten oder die Abrasion bei einem gesunden Patienten mit einem kontaminierten Instrument. Selbst wenn man annimmt, dass es etwa 1000 mal mehr zahnärztliche Eingriffe pro Jahr gibt, kann das Übertragungsrisiko auf diesem Wege 1.000.000 mal weniger bedeutend eingestuft werden als bei einer Tonsillektomie.

Der zweite Infektionsweg weist Probleme einer anderen Art auf: Es ist unstrittig, dass endodontische Instrumente während der Behandlung mit Geweben der Pulpa in Kontakt kommen und dass diese auch nach den Dekontaminationsprozessen auf den Instrumenten nachgewiesen werden können. Hingegen ist es aber nicht geklärt, ob die involvierten Gewebe ein spezifisches Risiko der Übertragung der vCJK bergen. Auch wenn das Übertragungsrisiko aufgrund der gegenwärtigen Erkenntnisse klein erscheint, muss die Situation ständig mithilfe neuer Erkenntnisse über die Infektiosität entsprechender Gewebe überprüft werden (Department of Health; Economics and Operational Research Division (EOR4) 2003).

Die wissenschaftlichen Veröffentlichungen spiegeln geteilte Meinungen wider: Einerseits sollte das Risiko der iatrogenen Übertragung der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit durch endodontische Behandlung nicht negiert werden (Azarpazhooh & Leake 2006, Palacios-Sanchez et al. 2007). Durch Ermittlung der Risikopatienten mithilfe gezielter Fragebögen könnte das Übertragungsrisiko eventuell eingeschränkt werden (Palacios-Sánchez et al. 2007). Andererseits werden orale Gewebe als „low-risk“ eingestuft (Porter 2003, Walker et al. 2008). Das Risiko einer Übertragung der vCJK sei bei einer zahnärztlichen Behandlung circa eine Milliarde geringer als bei einer Tonsillektomie (Porter 2003). Auch Zerr et al. lehnen einen Zusammenhang von zahnärztlicher Therapie und Übertragungsrisiko ab (2000). Während Keogh et al. denselben Standpunkt vertreten, wird aber eingeräumt, dass das potentiell infektiöse Gewebe das Nervengewebe der Pulpa sei (2004). Laut Parashos et al. besteht keine wissenschaftliche Rechtfertigung, endodontische Instrumente hinsichtlich der Übertragungsmöglichkeit von Prionen-Erkrankungen als Einweginstrumente zu behandeln (2004). Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Übertragungsrisiko der vCJK und der Tätigkeit von

Zahnärzten wurde anhand der Auswertung von Fragebögen abgelehnt (Everington et al. 2007).

Endodontische Feilen sind Instrumente, welche eine komplexe Geometrie besitzen und schwer zu reinigen sind (Walker et al. 2007). Somit kann das theoretisch bestehende Risiko, dass verbliebene Rückstände eine Transmission der Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ermöglichen, nicht ausgeschlossen werden. Weitere Untersuchungen sind zusätzlich erforderlich (Smith et al. 2003).

2.5. Offizielle Richtlinien und Empfehlungen zu endodontischen Instrumenten sowie deren Risikoeinschätzung

2.5.1. Übertragungsrisiko der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

Bislang bestehen Unterschiede zwischen dem Robert Koch-Institut, der World Health Organization und dem Department of Health des Vereinigten Königreiches bezüglich der Risikoeinschätzung Creutzfeldt-Jakob-Erkrankter, der betroffenen Gewebe sowie der involvierten Medizinprodukte.

Das Robert Koch-Institut ordnete endodontische Feilen und Reamer der Gruppe „Kritisch B“ zu. Somit fallen diese unter kritische Medizinprodukte, welche Haut oder Schleimhaut durchdringen und besonders hohe Anforderungen an die Aufbereitung mit sich bringen (Robert Koch-Institut 2006). Diese Klassifikationsgruppe beinhaltet nachdrückliche Empfehlungen, die von Experten und aufgrund eines Konsensusbeschlusses der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch-Institut als effektiv angesehen werden und auf gut begründeten Hinweisen für ihre Wirksamkeit basieren. Eine Einteilung in diese Kategorie kann auch dann erfolgen, wenn wissenschaftliche Studien zu dem betroffenen Thema möglicherweise noch nicht durchgeführt wurden (Mitteilung des Robert Koch-Institutes 2004). Auch einer Einteilung von Spalding zufolge gelten endodontische Instrumente als „kritisch“, da sie in Kontakt mit dem Blutssystem kommen oder wahrscheinlich Blutungen auslösen können (Scotland, National Health Service 2004).

Die World Health Organization informierte, dass epidemiologische Untersuchungen die iatrogene Transmission von TSE durch zahnmedizinische Prozeduren beim Menschen nicht bestätigen konnten. Hingegen deuten

Tierversuche aber auf andere Vermutungen hin. Diese Versuche zeigen zum einem nach intraperitonealer Impfung der Tiere große Mengen des Erregers und zum anderen ebenso eine Infektion gesunder Tiere, nachdem Wurzelkanäle oder Abschürfungen der Zunge infektiösem Hirnhomogenat ausgesetzt wurden. Die World Health Organization stimmte darin mit den nationalen zahnärztlichen Vereinigungen überein, dass die allgemeinen Infektionskontrollen ausreichend seien, solange während der Behandlung Kontakt mit neurovaskulärem Gewebe verhindert werde. Der Ausschuss war nicht in der Lage, zu einem Konsensus über das Übertragungsrisiko von TSE-Erregern durch umfangreiche zahnmedizinische Behandlungen zu kommen (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000).

WHO <i>Humane vCJK</i>			RKI <i>vorwiegend Tierversuche</i>	
Gewebe	Infektiosität	PrP ^{TSE}	Gewebe	Infektiosität
Gehirn	hoch	positiv	Gehirn	hoch
Rückenmark	hoch	positiv	Rückenmark	hoch
Retina	NT	positiv	Auge	hoch
N. Opticus	NT	positiv		
Spinalganglion	hoch	positiv	British DoH <i>Humane vCJK</i>	
Ggl. Trigeminal	hoch	positiv	Gewebe	Infektiosität
			PNS*	hoch

Tab.1a-c: Gewebe mit **hoher** Infektiosität
(NT=Nicht getestet)

(Tabellen 1(a-c)-4(a-c): Simon, D. & Pauli, G. 1998, Department of Health; Economics and Operational Research Division (EOR4) 2003, World Health Organization 2006)

* Infektiosität im menschlichen Peripheren Nervensystem (PNS) führt zu der Annahme, dass der Erreger auch in der Pulpa vorhanden sein kann, da diese periphere Nervenendigungen enthält. Die Infektiosität wurde im Tierversuch bereits belegt (Ingrosso et al. 1999), wobei die Relevanz dieser Ergebnisse in Bezug auf den Menschen nicht geklärt sind (UK Department of Health 2007).

Das New South Wales Department of Health zählt zu „high-risk“-Gewebe im Zusammenhang mit der CJK Gehirn, Dura Mater, Rückenmark, Spinalganglien, Ganglion trigeminale, Riechepithel und die hintere Augenkammer sowie die Netzhaut (New South Wales Department of Health 2007).

RKI <i>vorwiegend Tierversuche</i>	
Gewebe	Infektiosität
Tonsillen	mittel
Lymphknoten	mittel
PNS	mittel
Dura mater	mittel

Tab.2: Gewebe **mittlerer** Infektiosität

RKI <i>vorwiegend Tierversuche</i>		WHO <i>Humane vCJK</i>		
Gewebe	Infektiosität	Gewebe	Infektiosität	PrP ^{TSE}
NasenSH	gering	PNS	gering	positiv
		Lymphknoten	gering	positiv
		Tonsille	gering	positiv
		Zunge	NT	negativ
		Speicheldrüse	NT	negativ

Tab.3: Gewebe **geringer** Infektiosität

British DoH <i>Humane vCJK</i>	
Gewebe	abnormales PrP
Gingiva	negativ*
Pulpa	negativ*
N. Alveolaris	negativ*
Speicheldrüse	negativ*
Zunge	negativ*

Tab.4a-c: Gewebe **ohne** am Menschen nachweisbare Infektiosität (NT= Nicht getestet)

WHO <i>Humane vCJK</i>		
Gewebe	Infektiosität	PrP ^{TSE}
Gingiva	NT	negativ
Pulpa	NT	negativ
Speichel	NT	negativ

RKI <i>vorwiegend Tierversuche</i>	
Gewebe	Infektiosität
Speicheldrüse	positiv
Speichel	positiv

* Vorläufige Erkenntnisse, die nicht das Vorhandensein von PrP^{Sc} unterhalb des Detektionslevels ausschließen lassen. Hingegen hätten sie aber verhältnismäßig größere Relevanz, da die Untersuchungen an Menschen und nicht im Tierversuch durchgeführt wurden. Auffällig ist, dass diese Ergebnisse zu einem Zeitpunkt nach dem Ausbruch der Krankheit entstanden sind, als eigentlich die höchste Infektiosität zu erwarten war. Somit stehen diese negativen Funde im Kontrast zu der Behauptung, dass Infektiosität in Tonsillengewebe bereits vor dem Ausbruch der Krankheit vorhanden sei (Department of Health; Economics and Operational research Division (EOR4) 2003).

Eine Einteilung von Übertragungsrisikogruppen erfolgte durch das Robert Koch-Institut und die World Health Organization.

Robert Koch-Institut:

1. Patienten mit **hohem** Risiko, an CJK erkrankt zu sein oder diese zu entwickeln:
 - Träger pathogener Mutationen im Prion-Protein-Gen
 - Mitglieder einer Familie mit familiärer CJK, GSS, FFI, auch wenn der Genotyp nicht bestimmt ist
2. Patienten mit **erhöhtem** Risiko, an CJK erkrankt zu sein oder diese zu entwickeln:
 - Patienten mit ungeklärter, fortschreitender Erkrankung der ZNS mit und ohne Demenz
 - Empfänger von humanen Hypophysen-Hormonen (Wachstumshormone und Gonadotropine)
 - Empfänger von Dura Mater-Transplantaten in den Jahren 1972-1987
3. Patienten mit **niedrigem** Risiko, an CJK erkrankt zu sein oder diese zu entwickeln:
 - alle übrigen Personen

Patienten der ersten beiden Gruppen werden als Patienten mit erhöhtem Übertragungsrisiko zusammengefasst, da Träger einer latenten CJK-Infektion nicht erkannt werden können (Simon, D. & Pauli, G. 1998).

World Health Organization

- **Höchstes Übertragungsrisiko** weisen Individuen mit bestätigter beziehungsweise vermuteter vCJK auf. Hierbei kann die Methodik der Infektionskontrolle bei sCJK auf Fälle der vCJK übertragen werden.
- Empfänger von Dura Mater-Transplantaten, Korneatransplantaten,

humanen Hypophysen-Hormonen sowie Patienten, welche sich neurochirurgischen Prozeduren unterzogen haben, können **nicht länger zur Risikogruppe** der Übertragung von transmissiblen spongiformen Enzephalopathien gezählt werden. Ausgenommen sind hierbei aber Eingriffe, in welchen hochinfektiöses Gewebe der Patienten involviert ist.

- **Kein Konsensus** konnte bezüglich des Übertragungsrisikos von asymptomatischen Patienten bei Auftreten von familiärer transmissibler spongiformer Enzephalopathie gefunden werden (World Health Organization, 2003).

Nicht zu vernachlässigen ist zudem die Gefahr eines Träger-Status und der damit verbundenen Frage, wann eine infizierte Person infektiös wird. Es besteht die Möglichkeit, dass ein Anteil der Bevölkerung – eventuell determiniert durch Serotypen - anfällig für die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung ist und in einem subklinischen Stadium verharret, anstatt Symptome zu entwickeln. Kurzfristig hätte dies zur Folge, dass sich die Anzahl an klinischen Fällen verringert, langfristig würde sich aber das Risiko von Transmissionen (wenn diese subklinischen Träger infektiös sein sollten) stark erhöhen. Während die diskutierten Risiken schwierig zu konkretisieren sind und es zur Zeit keine wissenschaftliche Bestätigung der Infektiosität in der Pulpa des Menschen gibt, könnte das Risiko der Übertragung wiederum durch Einweginstrumente ausgeschaltet werden (UK Department of Health 2007).

2002 veröffentlichte die British Dental Association eine Richtlinie zur Aufbereitung von medizinischen Produkten und Hygienestandards. Es wurde als allgemeine Vorsichtsmaßnahme empfohlen, die Instrumente vor dem Autoklavieren besonders gründlich zu reinigen, um Rückstände möglichst vollständig zu entfernen. Bislang sei kein Fall der Übertragung durch zahnmedizinische Eingriffe bekannt, doch würden die CJK und verwandte Erkrankungen neue Fragen zum Thema Infektionskontrolle aufwerfen, da der Erreger schwieriger zu zerstören sei als zum Beispiel herkömmliche Mikroorganismen (British Dental Association 2003).

Im Jahr 2007 änderte das Department of Health des United Kingdom die Richtlinien, um jedes Infektionsrisiko zu eliminieren. Endodontische Reamer und Feilen wurden als Einweginstrumente klassifiziert. Es wurde ermahnt, die

höchsten Dekontaminationsstandards für sämtliches zahnmedizinisches Instrumentarium zu sichern und alle Herstelleranweisungen bezüglich der Aufbereitungsmethoden zu befolgen (Barry Cockcroft, Chief Dental Officer for England 2007). Diese neuen Empfehlungen basierten auf wissenschaftlichen Erkenntnissen des Spongiform Encephalopathy Advisory Committee (SEAC), welche im Jahre 2006 veröffentlicht wurden. Das SEAC gab an, dass die limitierte Lebensdauer von endodontischen Instrumenten die Zahl der sekundären Übertragungen zwar einschränke, trotzdem aber nur eine Verbesserung der Dekontaminationsmethoden das Risiko wirklich verringern könne. Zudem bringe die große Anzahl der jährlich durchgeführten Wurzelkanalbehandlungen, sowie die schwierige Reinigung der Instrumente, weitere Probleme im Hinblick auf die Ausbreitungsdynamik der Krankheit mit sich. Vollständig könne das existierende Risiko der Übertragung nur durch den Einmalgebrauch von endodontischen Feilen und Reamern ausgeschaltet werden <http://www.seac.gov.uk/statements/state-vcjd-dentistry.htm>. Der offizielle Einmalgebrauch von endodontischen Instrumenten zur Risikominimierung der vCJK wurde bislang nur im United Kingdom durch das Department of Health durchgesetzt (Barry Cockcroft, Chief Dental Officer for England 2007). In den USA finden endodontische Instrumente ebenso als Einweginstrumente Verwendung, weniger aber aus infektionsprophylaktischen Gründen, sondern eher aufgrund des erhöhten Frakturrisikos der filigranen Instrumentenspitzen (Department of Health; Economics and Operational Research Division (EOR4) 2003).

Die Wiederverwendung von Einwegprodukten bringt rechtliche Folgen mit sich. Wer Einwegprodukte aufbereitet oder wiederverwendet, obwohl sie für den einmaligen Einsatz bestimmt sind, trägt die volle Verantwortung für ihre Sicherheit und Effektivität (National Dental Advisory Committee 2007). Zudem birgt die mehrfache Nutzung von Einmalartikeln die Möglichkeit einer physikalischen oder physiologischen Schädigung des Patienten sowie weitere nicht-medizinische Probleme im Zusammenhang mit ethischen Werten und betriebswirtschaftlichen Faktoren (Heeg et al. 2001). Einweginstrumente werfen Kosten im Gesundheitssystem auf und betreffen Umweltbelange (Dunn 2002). Es ist aber nicht sinnvoll, Kosten durch die Aufbereitung von Einweginstrumenten zu sparen, da die regelrechte Dekontamination und

Beständigkeit der Materialien nicht gewährleistet werden kann (Heeg et al. 2001). Bezüglich der Kosten stellte das Department of Health des Vereinigten Königreiches einen theoretischen Plan auf. Abhängig sei der Betrag von der Anzahl der Wurzelkanalbehandlungen in einem Referenzzeitraum, dem Ausmaß, in dem der/die Zahnarzt/-ärztin die Instrumente bereits nach dem ersten Mal entsorgt, der durchschnittlichen Häufigkeit, mit der die Instrumente ersetzt werden, der durchschnittlichen Zahl der gebrauchten Instrumente pro Behandlung, des Instrumententyps und den derzeitigen Kosten für die Herstellung von Einweginstrumenten. Bei einem Durchschnitt von 25 Behandlungen im Jahr errechneten sie einen zusätzlichen Kostenaufwand von £80 pro Jahr, während bei 200 Wurzelkanalbehandlungen im Jahr zusätzliche Kosten von £600 pro Jahr zu erwarten seien (Department of Health).

2.5.2. Offizielle Richtlinien und Empfehlungen zur Dekontamination

Das Robert Koch-Institut beschreibt die Inaktivierung von Prion-Proteinen als problematisch. Selbst eine Dampfsterilisation bei 134°C für 18 Minuten inaktiviere den Erreger bei hoher Ausgangsbelastung im organischen Material nicht. Die Hitzeresistenz übertreffe die der bakteriellen Sporen deutlich. Auch können Desinfektionsmittel, insbesondere solche mit RNAsen, den TSE-Erreger nicht abtöten. Zusätzlich wird die Diagnostik dadurch erschwert, dass bisher keine messbare Immunantwort gegen das Agens im infizierten Organismus beobachtet worden ist (Robert Koch-Institut 2002).

Medizinprodukte wie endodontische Instrumente, welche der Kategorie „Kritisch B“ unterliegen, sollen entweder entsprechend der Herstellerangaben aufbereitet oder durch ein standardisiertes/validiertes Aufbereitungsverfahren gereinigt werden. Kann aufgrund von Kenntnissen kein standardisiertes Verfahren Verwendung finden, werden die Instrumente nicht aufbereitet. Personal, welches die entsprechenden Maßnahmen durchführt, muss über die erforderlichen Sachkenntnisse verfügen. Die Reinigung erfolgt bevorzugt maschinell (durch thermische Reinigungs- und Desinfektionsverfahren in geeigneten Einsätzen) oder gegebenenfalls manuell (durch ein geeignetes Reinigungs- und Desinfektionsverfahren, eventuell mit Korrosionsschutz und bei Bedarf in Kombination mit Ultraschall, Spülung und Trocknung). Ist die Anzahl der Aufbereitungszyklen begrenzt, muss dieses gekennzeichnet

werden. Hiernach erfolgt die Dampfsterilisation in geeigneten Klarsichtsterilisierverpackungen, Dentalkassetten oder Containern. Eine über die üblichen sorgfältig durchgeführten Präventionsmaßnahmen hinausgehende Verfahrensweise ist nur bei Patienten mit entsprechender Symptomatik, beziehungsweise geäußertem Verdacht auf das Vorliegen einer Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathie erforderlich, entsprechend den Veröffentlichungen von Smith (s. Pkt. 2.4.2.3.) und des Robert Koch-Instituts. Patienten mit Verdacht oder klinisch wahrscheinlicher Erkrankung an einer übertragbaren spongiformen Enzephalopathie sollten in Einrichtungen behandelt werden, die über entsprechende Verfahren und geeignete Möglichkeiten der Infektionsprävention verfügen. Bei der Behandlung sollten, wann immer möglich, Einwegmaterialien verwendet werden, die sicher entsorgt werden müssen (Robert Koch-Institut 2006).

In Deutschland gibt es kein bundeseinheitliches Hygienerecht, sondern zahlreiche Vorschriften, deren Umsetzung und Aufsicht der Länderebene unterliegen. Alle Hygienemaßnahmen sind Teil des vom Gesetzgeber geforderten Qualitätsmanagements im Gesundheitswesen. Als Grundlagen gelten die EU-Richtlinien, Infektionsschutzgesetz, Medizinproduktegesetz, Sozialgesetzbuch, Arbeitsschutzgesetz, Gefahrstoffverordnung, Medizinproduktebetriebsverordnung, Medizinsicherheitsplanverordnung, Gesetz über den öffentlichen Gesundheitsdienst, Richtlinien von Referenzgremien, technische Regeln und (Europa-) Normen sowie andere. Überwacht werden sie durch §26 des Medizinproduktegesetzes, §36 des Infektionsschutzgesetzes und §9 Abs. 2 des Gesetzes über den öffentlichen Gesundheitsdienst (LZK Baden-Württemberg 2008). Im Handbuch der niedersächsischen Zahnärztekammer wird beispielsweise für endodontische Instrumente entweder thermische Reinigungs- und Desinfektionsverfahren (RDG) oder chemische Reinigungs- und Desinfektionsverfahren je nach Materialeigenschaften gefordert. Nachfolgend Verpackung (in Folienbeuteln, Klarsichtsterilisierverpackung oder Kassette/Container), Sterilisation (im Autoklav bei 134°C bzw. 121°C, abhängig von der Betriebszeit, oder im Heißluftsterilisator mit automatischer Luftumwälzung) und anschließend kontaminationsgeschützte Lagerung (Schrank, Schublade). Die Landeszahnärztekammer Hessen empfiehlt für Instrumente der Gruppe

„Kritisch B“ (u.a. endodontische Instrumente) Reinigungs- sowie Desinfektionsverfahren (RDG) in Kombination mit Sterilisation (verpackt) oder manuelle Verfahren in Kombination mit Sterilisation (verpackt) (Landeszahnärztekammer Hessen 2006).

Operative Eingriffe bei Patienten mit Verdacht auf CJK sollten möglichst unter Verwendung von Einweginstrumenten und Einwegmaterialien durchgeführt werden. Chirurgische Instrumente, die bei Patienten mit Verdacht auf CJK eingesetzt werden, sollten generell nicht wiederverwendet - und wo unumgänglich - mit wirksamen Sterilisationsmaßnahmen behandelt werden. Nicht dampfsterilisierbare Instrumente und Materialien sind zu vernichten. Geeignete Verfahren zur Inaktivierung von CJK-Erregern sind zum Beispiel:

1. Behandlung mit 2,5-5%igem NaOCl für 24 Stunden bei Raumtemperatur
2. Sofern dampfsterilisierbar, Autoklavieren bei 134°C für eine Stunde

(Zahnärztekammer Niedersachsen 2004).

Die World Health Organization beruft sich mit ihren Empfehlungen auf die bisherigen Studien zu diesem Thema unter dem Vorbehalt, dass sich diese aufgrund von neuen Erkenntnissen jederzeit ändern könnten:

1. Vernichtung

- verwendbar für alle Instrumente, Materialien und Abfälle
- bevorzugte Methode für alle Instrumente, welche hoch infektiösem Gewebe ausgesetzt wurden

2. Autoklavieren / chemische Sterilisationsmethoden für hitzebeständige Instrumente

- Einweichen in Natriumhydroxid oder Natriumhypochlorit, Autoklavieren für 30 Minuten bei 121°C, erneutes Säubern, Abspülen unter Wasser, routinemäßige Sterilisation
- Einweichen in Natriumhydroxid oder Natriumhypochlorit für eine Stunde, Lagern in Wasser, Gravity displacement Autoclave (Luft wird durch Dampf verdrängt) bei 121°C für eine Stunde, routinemäßige Sterilisation
- Einweichen in Natriumhydroxid oder Natriumhypochlorit für eine Stunde, Abspülen mit Wasser, Gravity displacement Autoclave bei 121°C oder Porous Load Autoclave (Vakuum wird durch Dampf ersetzt, im Gegensatz zum Gravity Displacement Autoclave nicht verwendbar für die

Sterilisation von Lösungen) bei 134°C für 1 Stunde, routinemäßige Sterilisation

- Einweichen in Natriumhydroxid, 10 Minuten bei atmosphärischem Druck Kochen, Säubern, routinemäßige Sterilisation
- Einweichen in Natriumhypochlorit (bevorzugt) oder alternativ in Natriumhydroxid bei Raumtemperatur für eine Stunde, Abspülen mit Wasser, routinemäßige Sterilisation
- Autoklavieren bei 134°C für 18 Minuten

3. Chemische Methoden für Oberflächen und hitzeempfindliche Instrumente

- Einweichen in 2N Natriumhydroxid oder unverdünntem Natriumhypochlorit für eine Stunde, Nachspülen mit Wasser
- Bei Unverträglichkeit von NaOH oder Hypochlorit gründliche Reinigung und Reduktion der Infektiosität durch Verdünnung

4. Autoklavieren / chemische Methoden für Textilwaren

- Kleinere Textilwaren sollten entweder NaOH oder Natriumhypochlorit standhalten und dann in Porous Load Autoclave (s.o.) bei mindestens 121°C für eine Stunde behandelt werden.
- Sperrige Teile oder solche anderer Größe, welche nicht NaOH oder Natriumhypochlorit standhalten können, sollten bei 134°C für eine Stunde im Porous Load Autoclave aufbereitet werden.

(World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000).

Desweiteren wurden zusätzliche Maßnahmen als Empfehlungen, nicht aber als Richtlinien herausgegeben:

1. Nutzen von Einweginstrumenten und –ausrüstung
2. Wieder verwendbare zahnärztliche Bohrer, welche möglicherweise mit neurovaskulärem Gewebe kontaminiert wurden, sollten entweder nach Gebrauch vernichtet oder alternativ dekontaminiert werden (siehe oben).
3. Behandlungen, welche neurovaskuläres Gewebe betreffen, gegen Ende des Behandlungstages einplanen, um eine ausgiebige Reinigung und Dekontamination gewährleisten zu können (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000, World Health Organization 2003).

Von allen Dekontaminationsmethoden wird Dampfsterilisation am ehesten befürwortet, obwohl dies den Erreger nach eigenen Angaben nicht verlässlich eliminieren konnte (UK Department of Health 2009). Das britischen Department of Health gab zur Auskunft, dass man annimmt, dass Vakuumautoklavieren die Infektiosität des Erregers der CJK um etwa $10^{2,5}$ reduziert. Hingegen unterstützen Umfragen die Annahme, dass die Dampfsterilisatoren, welche in britischen Praxen genutzt werden, den Erreger nicht verlässlich eliminieren könnten (Bagg et al. 2001); wie viel ineffektiver die Sterilisation ist, sei schwierig abzuschätzen, doch von einem pessimistischen Standpunkt aus könne wenig mehr als eine 10fache Reduktion des Erregers erreicht werden (UK Department of Health 2007).

Es wurde empfohlen, 15 Minuten bei 128°C, 3 Minuten bei 134-137°C, 18 Minuten bei 134-137°C oder in sukzessiven Zyklen für jeweils 3 Minuten bei 134-137°C zu autoklavieren. Als ineffektive Desinfektionsmittel wurden Alkohol, Ammoniak, Ethylenoxid, β -Propiolacton, Chlordioxid, Formaldehyd, Glutaraldehyd, Salzsäure, Wasserstoffperoxid, Jodophore, Peressigsäure, wässrige Phenollösungen ($\leq 90\%$ Phenol), Natriumdichloroisocyanurat (z.B. Presept) und 10.000ppm Natriumhypochlorit aufgelistet. Zahnärzte sollten sich nicht von dem sogenannten „Prionenzyklus“ in Sterilisatoren fehlleiten lassen, welcher Prionen allein nicht inaktivieren könne (UK Department of Health 2009).

Der Australian and New Zealand Standard fordert gegensätzlich zu den zuvor genannten Richtlinien für endodontische Feilen eine makroskopische Sauberkeit nach der Reinigung vor dem Sterilisationsprozess (Australian/New Zealand Standard 2003).

3. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es festzustellen, ob auf gebrauchten und wieder aufbereiteten Wurzelkanalinstrumenten Proteine und Bakterien nachweisbar sind.

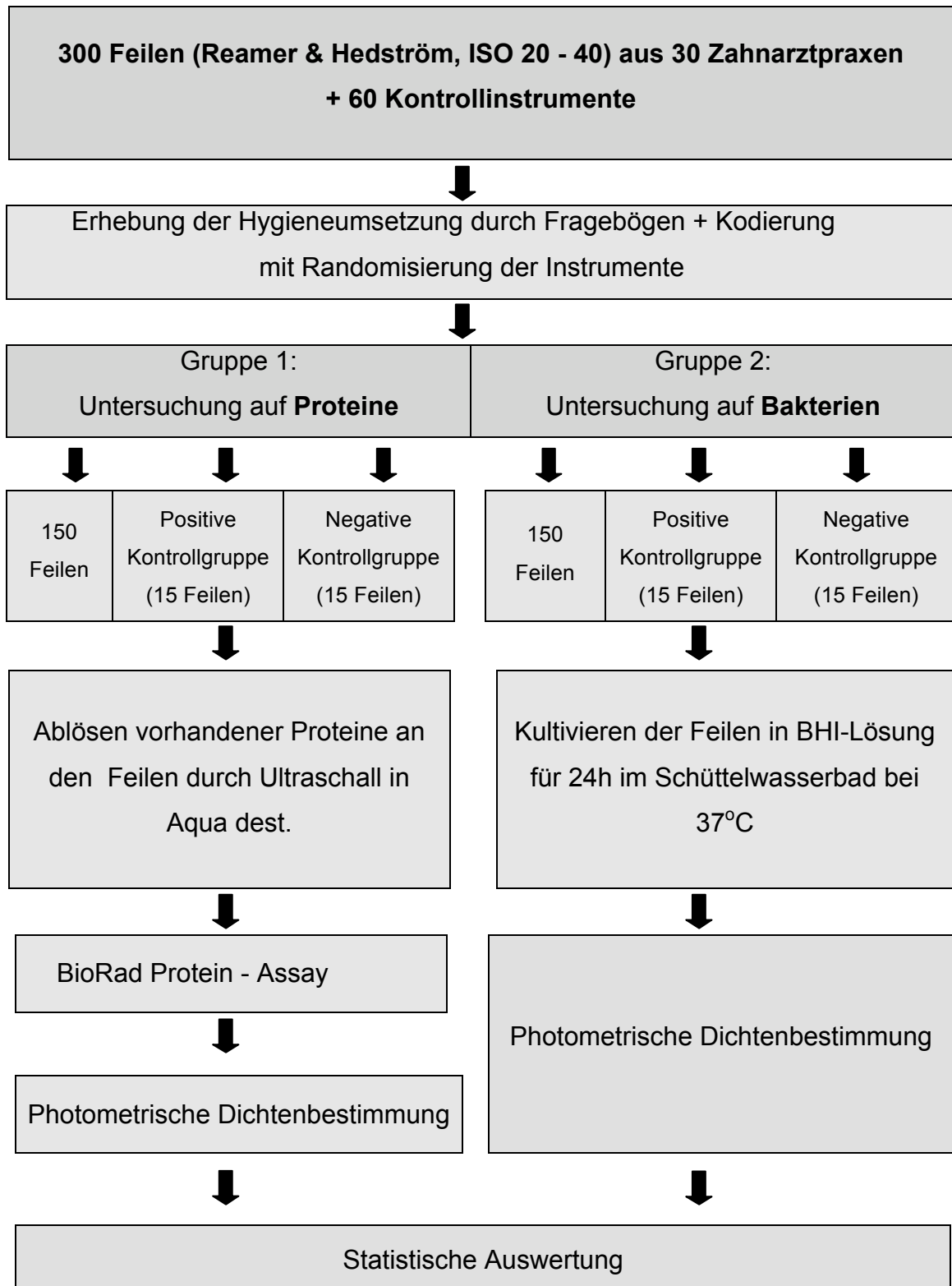
Hierzu werden aus 30 Praxen jeweils 10 endodontische Feilen auf Ablagerungen untersucht. Zusätzlich werden weitere sechzig Kontrollinstrumente (30 Positivkontrollen sowie 30 Negativkontrollen) auf dieselbe Art getestet. Als positive Kontrollen dienen ungebrauchte Feilen, die mit Proteinen oder Bakterien vorab kontaminiert werden, als negative Kontrollgruppen werden verpackungsneue sterilisierte Instrumente verwendet.

Folgende Hypothesen sollen untersucht werden:

- I. Auf den zur Wiederverwendung aufbereiteten Instrumenten aus zahnärztlichen Praxen sind keine Proteine nachweisbar.
- II. Auf den zur Wiederverwendung aufbereiteten Instrumenten aus zahnärztlichen Praxen sind keine Bakterien nachweisbar.
- III. Die in Zahnarztpraxen durchgeführten Reinigungsprotokolle werden entsprechend der derzeit geltenden Hygienerichtlinien umgesetzt.

4. Material und Methoden

4.1. Versuchsdesign



4.2. Auswahl der Feilen

Aus insgesamt 30 Zahnarztpraxen in den Bundesländern Niedersachsen und Hessen wurden jeweils 10 benutzte und wiederaufbereitete endodontische Instrumente persönlich eingesammelt.

Den Praxen wurde ein Anschreiben (Anhang 9.3.) zugesandt, dem eine frankierte Postkarte (Anhang 9.4.) beigelegt wurde, auf der sie ihre Teilnahme bestätigen konnten. Diesen Karten war bereits eine randomisierte Ordnungszahl zugeteilt.

Es wurden ausschließlich Feilen des Typs Reamer oder Hedström der Größen 20 bis 40 ausgewählt. Wie oft die gesammelten Instrumente schon am Patienten in Benutzung gewesen waren, konnte nicht nachvollzogen werden, aber sie mussten zuvor mindestens einmal am Patienten angewendet und anschließend vollständig wiederaufbereitet worden sein, so dass die Feilen in genau diesem Zustand hätten erneut angewendet werden können.

Sechzig weitere Reamer und Hedströmfeilen in den Größen ISO 20-30 wurden als Kontrollinstrumente (Mat#1&2) verwendet. 15 dieser 60 Kontrollinstrumente wurden mit Speichel kontaminiert und dienten somit als Positivkontrollen für den Proteinnachweis, während weitere 15 Feilen als Negativkontrollen untersucht wurden. Diese Instrumente wurden nach der Entnahme aus der Verpackung sterilisiert, um eine eventuelle Verschmutzung durch bakterielle Proteinstrukturen auszuschließen.

Auch für die Bakteriennachweise wurden je 15 der 60 fabrikneuen Feilen als Positiv- beziehungsweise als Negativkontrollen verwendet. Dabei wurden die Feilen der positiven Kontrollgruppe durch 30 Sekunden langes Drehen zwischen Daumen und Zeigefinger zweier Personen kontaminiert. Die Feilen der negativen Kontrollgruppe für den Bakteriennachweis wurden nach der Entnahme aus der Verpackung sterilisiert, da bei fabrikneuen Feilen ohne Sterilverpackung keine Keimfreiheit gewährleistet werden konnte.

4.3. Erhebung der Hygieneumsetzung und Kodierung der Praxen

Zur Evaluation der Reinigungs-, Desinfektions- und Sterilisationsprozesse für endodontische Instrumente in insgesamt 30 Zahnarztpraxen wurden den hiermit beauftragten Personen Fragebögen vorgelegt und anschließend wurde die Datenerhebung in einem persönlichen Gespräch vervollständigt.

Der Erstellung der Fragebögen lagen die Richtlinien zur Infektionsprävention in der Zahnheilkunde des Robert Koch-Instituts (RKI) (Robert Koch-Institut 2006, Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) 2004) zugrunde.

Um die Anonymität der beteiligten Zahnarztpraxen zu gewährleisten, wurden die Fragebögen einer jeden Praxis mit den dazugehörigen Feilen durch eine randomisierte Zuordnung kodiert. Dies wurde mit Hilfe der Internetseite www.random.org durchgeführt. Hierzu wurden sämtliche Zahnarztpraxen in Hannover, Hildesheim, Göttingen, Wiesbaden, Marburg und Gießen mittels des Zahnärztereisters (Stand: 11.01.2009) aufgelistet und durch die erstellte Kodierung sortiert und ausgewählt.

4.4. Aufteilung der Feilen

Die 300 Test-Feilen wurden zur Versuchsdurchführung den Untersuchungsgruppen randomisiert zugeordnet. Von den 10 Feilen einer Praxis wurden je 5 auf Bakterien und 5 auf Proteine untersucht.

Jeweils 30 weitere verpackungsneue Feilen wurden den zwei Gruppen als Kontrollinstrumente zugeordnet.

Von den zwei Versuchsgruppen mit jeweils 180 Instrumenten wurde eine auf Bakterien und die andere auf Proteine untersucht.

Während sämtlicher Sortierungsprozesse und Versuchsabläufe wurden sterile Latex-Handschuhe (Mat#3) getragen, um eine mögliche Kontamination auszuschließen.

4.5. Versuchsabläufe

4.5.1. Untersuchung auf Proteine

In 180 Reaktionsgefäßen (Mat#4) wurden jeweils 1000µl Aqua dest. ad injectabilia (Mat#5) pipettiert (Mat#6,7). Je eine Testfeile wurde mit einer sterilen Pinzette (Mat#8) den 150 befüllten Reaktionsgefäße hinzugefügt. Jeweils 15 Positiv- und Negativkontrollen wurden auf die übrigen 30 Reaktionsgefäße verteilt.

Hierbei dienten fabrikneue, nicht kontaminierte Feilen, die mit einer sterilen Pinzette in die Reaktionsgefäße sortiert wurden, als Negativkontrollen. Die Positivkontrollen wurden mit 5µl Speichel kontaminiert und für 10 Minuten

getrocknet. Anschließend wurden auch diese in die entsprechenden Cups gegeben.

Um potentiell vorhandene Proteine von den Feilen zu lösen, wurde das im Reaktionsgefäß befindliche Aqua dest. nachfolgend für 10 Minuten mit einer Ultraschallsonde (Mat#9) aktiviert. Um die Schalleistung der Sonde nicht zu beeinträchtigen, wurde eine Berührung von Sonde und endodontischem Instrument vermieden.

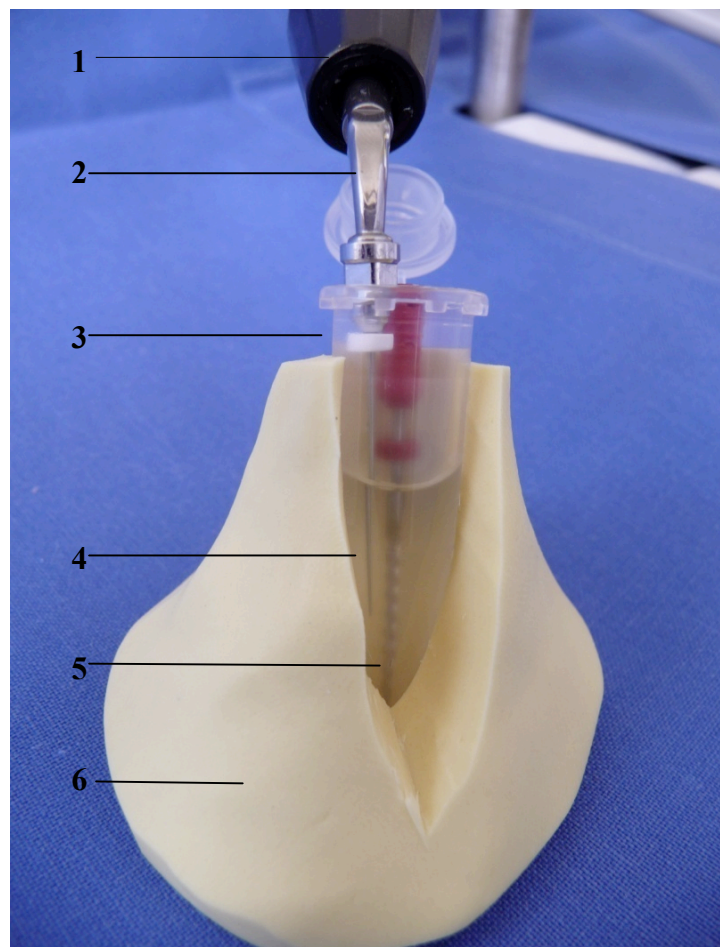


Abb.1: Versuchsaufbau für den Proteinnachweis

- 1) Ultraschallansatz der zahnärztlichen Einheit
- 2) Auswechselbarer Ultraschallsonden-Ansatz
- 3) Mit Aqua dest. gefülltes Eppendorfcup
- 4) Ultraschallsonde
- 5) Endodontische Feile
- 6) Ständer für das Eppendorfcup

Für jede einzelne Probe wurde eine neu sterilisierte Ultraschallsonde verwendet, wobei keine dieser Sonden öfter als fünf Mal benutzt und sterilisiert wurde. Vor jeder Anwendung wurden sowohl die Ultraschallsonden als auch die Versuchsanordnung (Abb.1) auf etwaige Defekte untersucht.

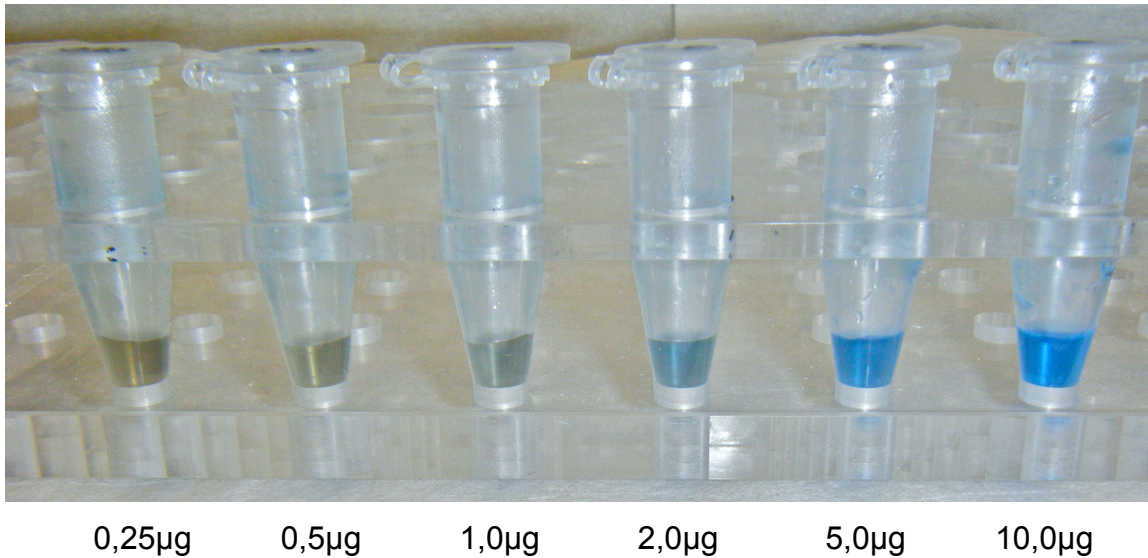
In weitere 180 Reaktionsgefäße wurden jeweils ausschließlich 1000µl Aqua dest. pipettiert. Diese Proben dienten als Leerwert und wurden vor der korrespondierenden Testreihe gleichermaßen mit der Ultraschallsonde aktiviert. Durch diese Methode konnte sichergestellt werden, dass später nachgewiesene Proteine nicht auf verunreinigte Sonden zurückzuführen waren. Die jeweils zueinander gehörenden Proben wurden im Vergleich ausgewertet.

Um eventuell vorhandene Proteine im weiteren Verlauf deutlicher nachweisen zu können, wurde die relative Proteinmenge in den Proben dadurch erhöht, dass die Flüssigkeit von 1000µl pro Probe auf 120µl reduziert wurde. In einem Vakuumgerät (Mat#10) wurden hierzu alle 360 Proben nach Beenden des Schallvorganges für 4 bis 6 Stunden eingedampft, bis keine Flüssigkeit mehr vorhanden war. Um die Proben wieder auf eine einheitliche Flüssigkeitsmenge zu bringen, wurde in jedes Reaktionsgefäß 120µl Aqua dest. pipettiert und 10 Sekunden auf dem Vortex-Gerät (Mat#11) geschüttelt, um an den Wänden haftende Proteine in die Flüssigkeit mit einzubeziehen und somit sicherzustellen, dass sich alle Proteine in Lösung befanden.

Zum eigentlichen Proteinnachweis wurde dann mit einer Pipette in jede Probe 30µl BioRad-Protein-Assay dye reagent concentrate (Mat#12) hinzugefügt, welcher in Anwesenheit von Proteinen eine blaue Färbung einnimmt. Um die gleichmäßige Verteilung des Indikators in der Flüssigkeit zu gewährleisten, wurden die Proben 10 Sekunden lang auf einem Vortex-Gerät geschüttelt, weitere 10 Minuten stehen gelassen und wiederum 10 Sekunden geschüttelt.

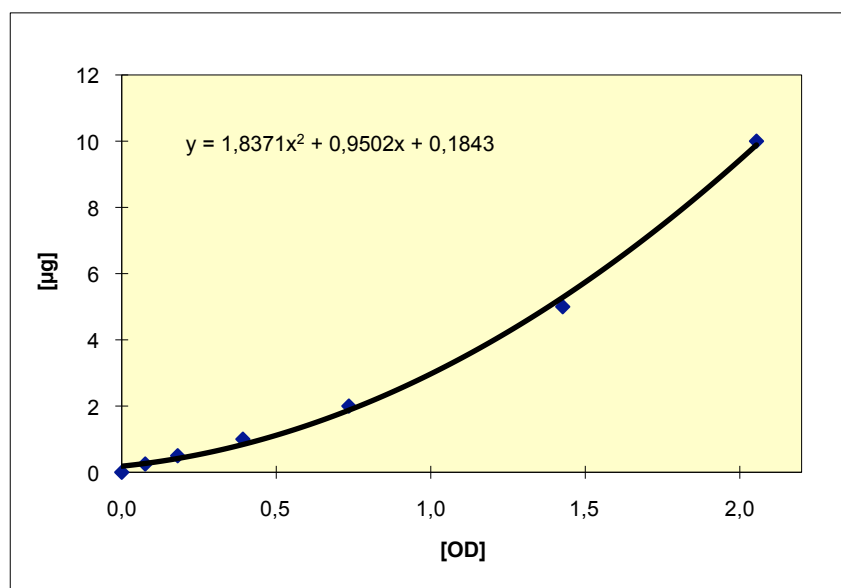
Mit einem Photometer (Mat#13) wurde die optische Dichte und somit der Proteingehalt der Proben indirekt bestimmt. Hierzu wurden aus jeder Probe 80µl in je eine Mikroküvette (Mat#14) pipettiert und die optische Dichte dieser Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 600nm gemessen.

Zur genauen Bestimmung der Proteinmenge wurde eine Standardreihe (Abb.2) angesetzt, mit der die Proben anschließend bei der Auswertung verglichen werden konnten.

**Abb.2:** Standardreihe für Mengennachweis der Proteine

Für die Standardreihe wurden in sechs Reaktionsgefäße je 1000µl Aqua dest. pipettiert. In jedem der Reaktionsgefäße wurde anschließend folgende Mengen an Proteinen (Mat#15) gelöst: 0,25µg, 0,5µg, 1µg, 2µg, 5µg und 10µg. Diese Proben wurden analog zu den Testfeilen behandelt: eingedampft, anschließend mit 120µl Aqua dest. befüllt und auf einem Vortex-Gerät geschüttelt.

80µl dieser 120µl wurden nachfolgend in je eine Mikroküvette pipettiert und die optische Dichte (OD) dieser Flüssigkeiten bei einer Wellenlänge von 600nm photometrisch bestimmt.

**Abb.3:** Standardkurve für den Proteinnachweis

Durch die graphische Darstellung (Abb.3) der Messergebnisse für die Standardreihe konnte eine Gleichung ermittelt werden, die es ermöglichte, die Werte der optischen Dichte der Proben (x-Achse) in korrespondierende Mikrogramm-Mengen (y-Achse) umzurechnen.

4.5.2. Untersuchung auf Bakterien

Die 150 zu untersuchenden Test-Feilen wurden direkt in den Praxen mit einer sterilisierten Pinzette in sterile Rundbodenröhrchen (Mat#16) sortiert. Dabei wurden sowohl die Röhrchen als auch deren Deckel über einem Brenner (Mat#17) abgeflammt, bevor sie für den Transport verschlossen wurden. Um versehentliche Kontamination auszuschließen, wurden die Röhrchen für den Transport zusätzlich luftdicht in einer Tüte (Mat#18) eingeschweißt.

Als Nährmedium für die Bakterien wurde eine Brain-Heart-Infusion-Lösung (BHI) (Mat#19) nach Herstellerangaben angefertigt (Mat#20,21) und anschließend für 20 Minuten bei 121°C autoklaviert (Mat#22), um eine potentielle Kontamination des Mediums auszuschließen.

Nach Abkühlen der Lösung wurden in die 150 Rundbodenröhrchen, welche die Test-Feilen enthielten, je 5ml der BHI-Lösung pipettiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Pipette niemals den Rand eines Röhrchens berührte und dass sie zusätzlich nach jedem Vorgang über einem Brenner abgeflammt wurde, um eine Bakterien-Übertragung auszuschließen. Vor dem Verschließen der Röhrchen wurden auch diese sowie die dazugehörigen Deckel abgeflammt, damit keine Bakterien aus der Umgebung in das Nährmedium gelangen konnten.

Zu den 150 Proben kamen sowohl 15 Positiv- als auch Negativkontrollen, welche ebenfalls in mit BHI-Lösung befüllte Röhrchen sortiert wurden.

Die Positivkontrollen wurden bewusst kontaminiert, indem sie je 30 Sekunden zwischen Daumen und Zeigefinger zweier unabhängiger Personen gerollt wurden. Als Negativkontrollen wurden 15 verpackungsneue und nochmals autoklavierte Instrumente in die Rundbodenröhrchen sortiert.

Unmittelbar nach Hinzufügen des Flüssigmediums wurden die Röhrchen für 24 Stunden unter aeroben Bedingungen in einem Schüttelwasserbad (Mat#23) fixiert. Bei einer Temperatur von 37°C schüttelte und drehte dieses die Proben mit einer Frequenz von 196 Umdrehungen pro Minute.

Nach 24 Stunden wurde die optische Dichte der Proben und somit das Bakterienwachstum ermittelt. Hierzu wurden alle Proben mit dem Vortex-Gerät geschüttelt, um eine homogene Lösung zu erlangen, aus welcher dann jeweils 500µl in eine Halbmikroküvette (Mat#24) pipettiert wurden.

In jede befüllte Halbmikroküvette wurde anschließend noch 500µl Aqua dest. hinzugefügt, so dass alle Test-Lösungen in den Halbmikroküvetten in einer 1+1-Verdünnung vorlagen. Auf diese Weise wurde die Gefahr ausgeschlossen, dass stark bewachsene Lösungen eine zu hohe Dichte aufwiesen, um photometrisch genau bestimmt werden zu können.

Die optische Dichte der 180 in gleicher Weise verdünnten Lösungen wurde abschließend bei einer Wellenlänge von 600nm photometrisch bestimmt und dokumentiert.

4.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Programms SPSS18.0 (SPSS Inc. USA) durchgeführt. Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardabweichungen gewählt wurden.

Mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurden die kontinuierlichen Variablen hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Bei den nicht normal verteilten Stichproben wurden nicht parametrische Tests genutzt.

Der Mann-Whitney-U-Test wurde beim Vergleich von 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben und der H-Test nach Kruskal und Wallis bei mehr als 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben angewendet.

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein $p\text{-Wert} \leq 0,05$ als statistisch signifikant angenommen wurde.

In den graphischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, fanden zur Veranschaulichung der Mediane und Quartilabstände Boxplot Diagramme Anwendung.

Für die Prüfung der erhobenen Daten gelten die üblichen Signifikanzniveaus:

$p > 0,05$	nicht signifikant
$p \leq 0,05$	signifikant
$p \leq 0,01$	sehr signifikant
$p \leq 0,001$	höchst signifikant

5. Ergebnisse

5.1. Menge der nachgewiesenen Proteine

Prüfung der Hypothese I :

„Auf den zur Wiederverwendung aufbereiteten Instrumenten aus zahnärztlichen Praxen sind keine Proteine nachweisbar.“

Diese erste Hypothese wurde widerlegt, da 62,7% der 150 untersuchten Instrumente mit Proteinen beziehungsweise Proteinrückständen kontaminiert waren.

Durch die angesetzte Standardreihe ließ sich die Proteinmenge auf den Feilen genauer beurteilen. Hierbei lag der Mittelwert der Protein-Konzentration bei 1,51µg mit einem Minimum von 0,12µg und einem Maximum von 14,40µg.

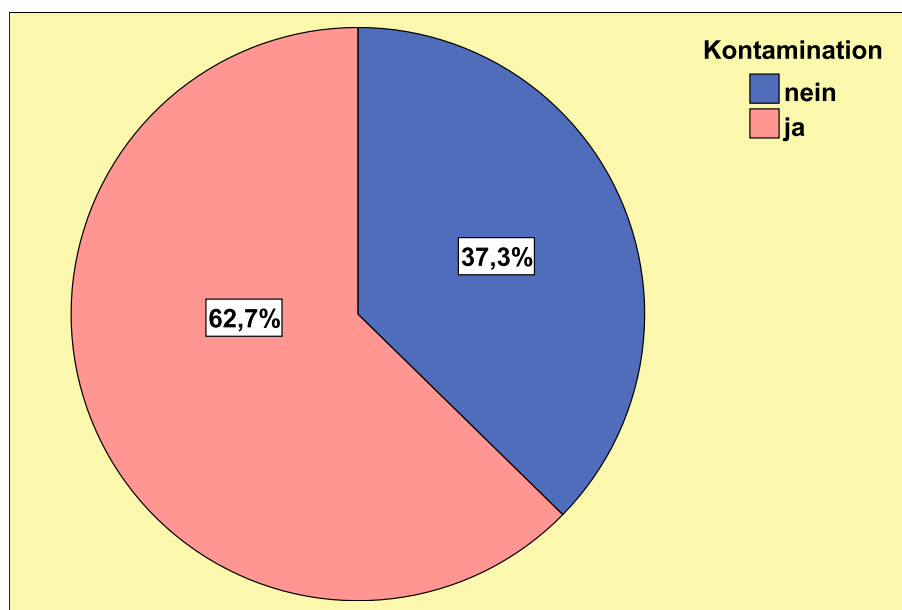


Abb.4: Proteinkontamination insgesamt

Der Test auf Normalverteilung ergab mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test ein Signifikanzniveau von $p < 0,005$, welches zeigt, dass keine Normalverteilung vorlag.

Da die Verteilungsfunktion unbekannt war, wurde die Lilliefors-Variante dieses Testes angewendet.

Im Vergleich der Testfeilen, unter Ausschluß der Kontrollgruppen, waren höchst signifikant ($p < 0,001$) mehr Instrumente kontaminiert als vollständig gereinigt.

5.1.1. Vergleich der Bundesländer

Nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Test zeigte sich im Vergleich der Bundesländer kein signifikanter Unterschied ($p=0,167$).

In Niedersachsen betrug der Median 0,33 μ g und entsprechend in Hessen 0,39 μ g. Auffälliger wichen die Mittelwerte voneinander ab, welche bei 1,01 μ g für Niedersachsen und 2,01 μ g für Hessen lagen. Wie die Graphik verdeutlicht, liegt diese Diskrepanz an den Ausreißern und sogar Extremwerten. Hierbei liegen Ausreißer 1,5 bis 3 Boxenlängen außerhalb der Box (gekennzeichnet mit einem Kreis) und die Extremwerte mehr als 3 Boxenlängen außerhalb der Box (gekennzeichnet mit einem Kreuzchen). Folglich bewirken die Ungleichheiten zwischen den Praxen innerhalb eines Bundeslandes zwar deutlich unterschiedliche Mittelwerte, hingegen aber keinen signifikanten Unterschied.

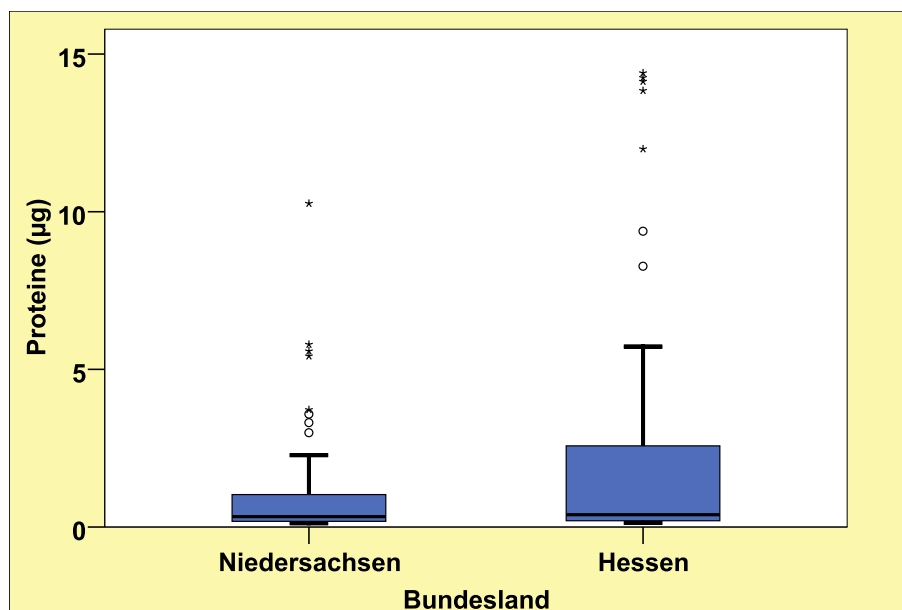


Abb.5: Vergleich Bundesländer

5.1.2. Vergleich der Städte

Zum Vergleich der Städte wurde der Kruskal-Wallis-Test bei mehr als 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben gewählt. Hier zeigten sich Ergebnisse mit einer Tendenz zur Signifikanz ($p= 0,092$).

In der graphischen sowie tabellarischen Darstellung der Ergebnisse der sechs Städte zeigten sich Unterschiede zwischen den Medianwerten. Marburg wies mit 0,54µg den höchsten Wert auf und lag ebenso im Vergleich der Mittelwerte mit 2,24µg an zweithöchster Stelle. Diskrepanzen aufgrund von Ausreißern und Extremwerten traten insbesondere bei Gießen auf, welches den höchsten Mittelwert (2,34µg) aufweist. Auch Wiesbaden (Mittelwert: 1,45µg) und Göttingen (Mittelwert: 1,66µg) ließen Ausreißer und Extremwerte erkennen.

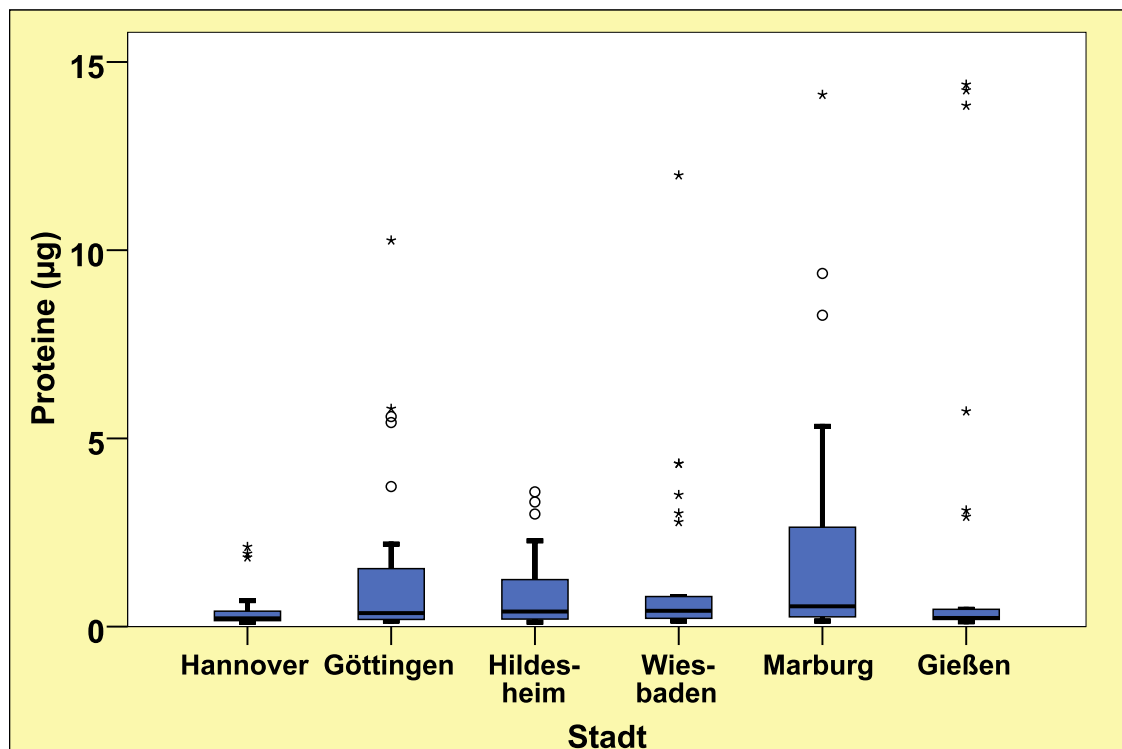


Abb.6: Darstellung der Städte im Vergleich

Stadt	H	Gö	Hi	Wi	Mr	Gi	Insgesamt
Median	0,2200	0,3600	0,400	0,4200	0,5400	0,2300	0,3350

Abb.7: Darstellung der Mediane der Städte (in µg)

(H=Hannover, Gö=Göttingen, Hi=Hildesheim,
Wi=Wiesbaden, Mr=Marburg, Gi=Gießen)

5.1.3. Vergleich der Praxen

Die Durchführung des Kruskal-Wallis-Test zeigte signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zwischen den absoluten Proteinmengen auf den untersuchten Instrumenten der einzelnen Praxen.

Die Werte der Mediane lagen zwischen 0,15µg und 13,84µg. Hierbei betrug in einer Praxis die maximale Proteinkonzentration eines Instrumentes 14,40µg.

Die rechnerisch signifikanten Unterschiede werden aber durch die hohe Anzahl der Praxen und die dabei geringe Anzahl der Instrumente pro Praxis in ihrer statistischen Aussagekraft eingeschränkt.

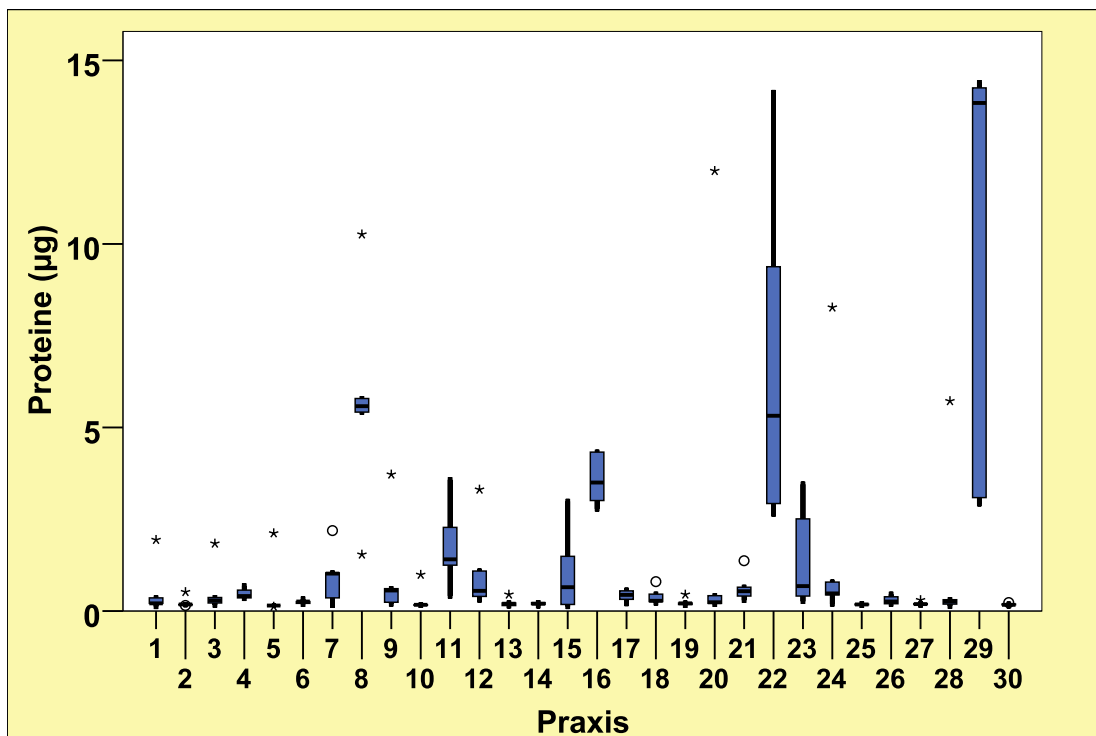


Abb.8: Darstellung aller Praxen im Vergleich

5.2. Menge der nachgewiesenen Bakterien

Prüfung der Hypothese II :

„Auf den zur Wiederverwendung aufbereiteten Instrumenten aus zahnärztlichen Praxen sind keine Bakterien nachweisbar.“

Auch die zweite Arbeitshypothese konnte nicht bestätigt werden, da sich Bakterien auf den wiederaufbereiteten endodontischen Feilen und Reamern nachweisen ließen. Es zeigten sich 22,7% (34 von 150) der Instrumente bakteriell kontaminiert.

Die Durchführung des Kolmogorov-Smirnov-Tests ließ eine signifikante Abweichung der Stichprobe von der Normalverteilung ($p < 0,001$) erkennen.

5.2.1. Vergleich der Bundesländer

Die Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests führte zu keinem signifikanten Ergebnis ($p=0,324$). Somit wurde kein Unterschied im bakteriellen Kontaminationsgrad zwischen den Bundesländern Hessen und Niedersachsen festgestellt.

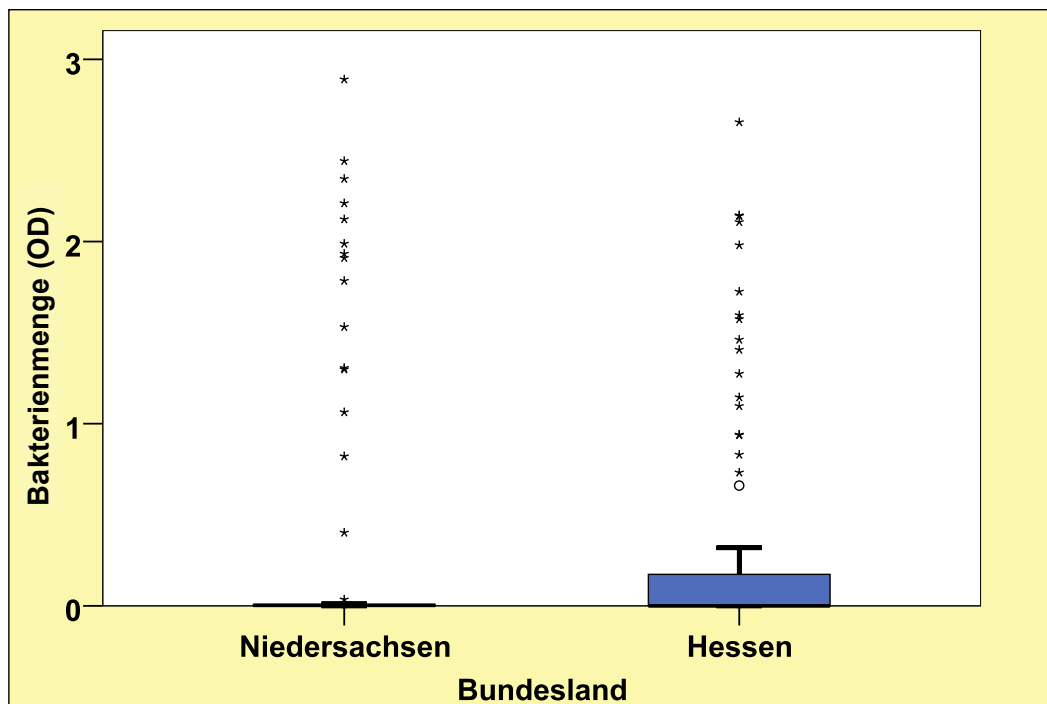


Abb.9: Darstellung des Bakteriennachweises in Niedersachsen und Hessen

5.2.2. Vergleich der Städte

Der Kruskal-Wallis-Test zeigte einen signifikanten Unterschied ($p=0,024$) zwischen den bakteriellen Kontaminationsgraden der einzelnen Städte auf. Auffallend zeigten sich in dieser Auswertung die 75. Quartilsabstände mit Werten zwischen 0,00350 und 1,36550, gemessen bei einer optischen Dichte von 600nm.

Diskrepanzen aufgrund von Ausreißern und Extremwerten zeigten sich besonders bei Wiesbaden mit einem Mittelwert von 0,32596, Hannover mit einem Mittelwert von 0,56964, Hildesheim (Mittelwert: 0,47688) und Marburg (Mittelwert 0,39464), gemessen bei einer Wellenlänge von 600nm.

Stadt	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
Hannover	0,0050	0,00300	1,36550
Göttingen	0,0020	0,00000	0,00350
Hildesheim	0,0010	0,00000	1,18050
Wiesbaden	0,0000	0,00000	0,01200
Marburg	0,0000	0,00000	0,69600
Gießen	0,0040	0,00000	0,88350

Abb.10: Darstellung der Mediane sowie 25. und 75. Quartilsabstände der Städte

5.2.3. Vergleich der Praxen

In den insgesamt 30 Praxen wurde nach Durchführung des Kruskal-Wallis-Tests ein signifikanter Unterschied ($p=0,034$) ersichtlich. Auch hier ist eine zuverlässige statistische Aussage aufgrund der hohen Anzahl der Praxen und der dabei geringen Anzahl von Instrumenten pro Praxis nicht möglich.

Die Mediane der einzelnen Praxen unterscheiden sich signifikant mit Werten von 0,00 bis 2,12.

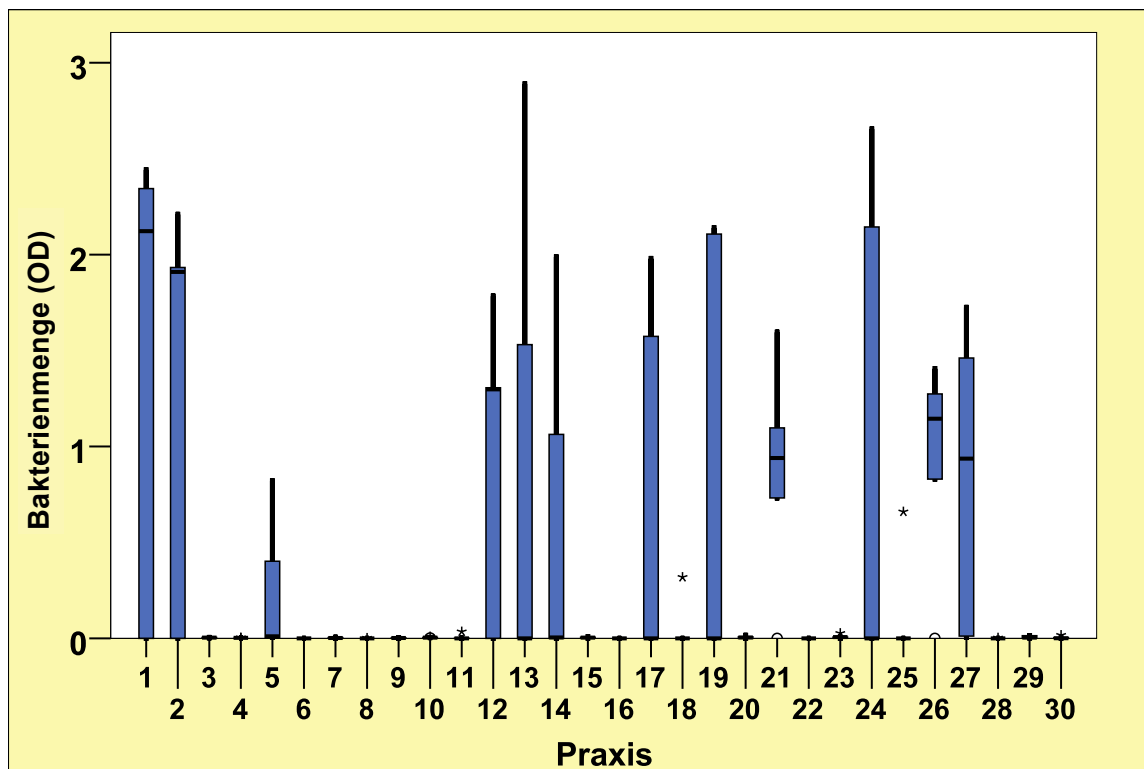


Abb.11: Übersicht der bakteriellen Kontamination der 30 Praxen

5.3. Auswertung der Fragebögen

Prüfung der Hypothese III :

„Die in Zahnarztpraxen durchgeführten Reinigungsprotokolle werden entsprechend der derzeit geltenden Hygienerichtlinien umgesetzt.“

5.3.1. Dekontaminationsmethoden von endodontischen Instrumenten

100% der befragten Praxen gaben an, nach Gebrauch eine manuelle Säuberung der Instrumente vorzunehmen, wovon 83% der Praxen die Instrumente vor der Säuberung feucht lagerten, um ein Antrocknen von Schmutz zu vermeiden.

Eine Spülmaschine kam in 23% der 30 Praxen zur Anwendung, ebenso wie 23% der Gesamtzahl aller Praxen ein Ultraschallbad nutzen. Lediglich 29% der Praxen, die eine Spülmaschine nutzten, reinigten die Feilen auch in einem Ultraschallbad. Die Flüssigkeit des Bads wurde nur in einer Praxis täglich, in den Übrigen wöchentlich gewechselt. Die Effektivität des Gerätes kontrollierten 87% dieser Praxen meist wöchentlich nach Herstellerangaben.

25 von 30 Praxen verwendeten einen Dampfsterilisator, während die restlichen 5 Praxen diese Frage verneinten.

In 33% der Praxen kamen Reinigungslösungen bei der Aufbereitung zum Einsatz, unter denen die Lösungen Hamo 100 PD, Prionzyme, SDS und NaOH in Gebrauch waren. Andernfalls wurden alkalische Reiniger verwendet.

5.3.2. Kontrolle der Wiederaufbereitung

100% der befragten Praxen untersuchten laut Fragebögen nach der Aufbereitung die Instrumente auf sichtbaren Schmutz. Zu 77% übernahmen diese Aufgabe die Helferinnen. Hierbei nutzten nur 10% der Praxen eine Vergrößerungshilfe.

In lediglich einer einzigen Zahnarztpraxis war für diese Tätigkeit eine Hygienebeauftragte engagiert.

Benutzte endodontische Instrumente einer bestimmten Größe wurden nur in 20% der Fälle immer sofort entsorgt. 63% aller Befragten dokumentierte die Anzahl der Zyklen, bevor Instrumente ausgetauscht wurden.

100% der Praxen gaben an, defekte Feilen stets direkt zu entsorgen. In 13 von 30 Praxen waren die Zahnarthelferinnen für die Beseitigung der Instrumente zuständig.

5.3.3. Lagerung der Instrumente

63% der befragten Praxen lagerten endodontische Feilen in Boxen, 7% in einfach verschweißter Verpackung, 20% in Boxen oder einfach eingeschweißt und weitere 7% in Boxen oder zweifach verschweißt. Die restlichen 3% (eine Praxis) gaben an, die Instrumente sowohl in Boxen als auch einfach beziehungsweise zweifach eingeschweißt in Steritüten zu lagern. Von den insgesamt 28 Praxen, welche Feilen in Boxen lagerten (als alleinige oder alternative Lagerungsmethode), legten 18% Filterpapier auf den Boxenboden unter die Instrumente.

Im Schrank oder in der Schublade wurden die verpackten Instrumente zu 97% gelagert, lediglich einmal wurde die Aufbewahrung im Regal gewählt.

Der Lagerungszeitraum erstreckte sich hierbei von unter 1 Tag (13%), unter 1 Woche (23%), unter 2 Wochen (43%), 1 Monat (7%), 2 Monate (7%) bis hin zu maximal einem halben Jahr (7%). Im Regal wurde die Aufbewahrungszeit unter zwei Wochen angegeben.

12 von 30 Praxen kennzeichneten die Boxen oder Steritüten mit Datum und Lagerfristen. Wie die anderen Praxen die Lagerzeiträume ermittelten, blieb unklar.

Die Trennung von Behandlungsbereich und Säuberungsbereich wurde in 93% der Praxen vorgenommen, wobei auf Nachfrage bei 93% von diesen im Säuberungsbereich ausschließlich auch nur gesäubert wurde. 87% aller Praxen definierten Bereiche als steril oder unsteril.

5.3.4. Schulung und Dokumentation

Zu 80% wurden die Reinigungsprozesse dokumentiert, während 20% der Praxen die Frage nach Dokumentation verneinten.

Spezielles Reinigungspersonal stand bei 87% nicht fest, nur in vier Praxen (13%) war dieser Aufgabenbereich klar verteilt.

90% des betroffenen Personals erhielt Schulungen zum Thema Hygiene und Dekontaminations- beziehungsweise Reinigungsvorgängen, bei 70% von

diesen wurden die Unterweisungen regelmäßig dokumentiert und wiederholt. 37% des Personals, welches geschult wurde, erhielt die Schulungen auch extern.

6. Diskussion

6.1. Material und Methoden

6.1.1. Auswahlkriterien und Fallzahl

Um die Auswahl der Feilen von möglichst wenig äußeren Faktoren beeinflussen zu lassen, wurden die Instrumente in allen Praxen persönlich abgeholt und für den Transport verpackt. Die Übergabe der Fragebögen und die Beantwortung durch die jeweilig zuständige Person wurden persönlich durchgeführt, so dass bei Rückfragen direkt Auskunft gegeben werden konnte. Trotz der randomisierten Auswahl der Feilen aus den zur Verfügung gestellten Instrumenten konnte nicht nachvollzogen werden, ob die angebotenen Feilen nicht eventuell kurz vorher gegen neue Instrumente ausgetauscht worden waren. Dementsprechend war eine Beeinflussung des Ergebnisses durch die Zahnärzte nicht auszuschließen, da das Resultat der Studie vollständig von deren Kooperation abhängig war. Dieses könnte eventuell die Ergebnisse beeinflussen.

Verglichen mit Fallzahlen anderer Studien (Parashos et al. 2004, Ferreira Murgel et al. 1990, Assaf et al. 2008, Johnson et al. 1997, Zmener & Speilberg 1995, Smith et al. 2002, Morrison & Conrod 2009, Aasim et al. 2006, Hurtt & Rossman 1996), welche maximal 250 Feilen innerhalb der ganzen Untersuchung testeten, weist die vorliegende Studie mit einer Zahl von insgesamt 300 Instrumenten, exklusive der Kontrollen, eine sehr gute Gruppengröße auf. Um eine hohe Aussagekraft zu erzielen, wurde darauf geachtet, die zwei Testgruppen möglichst groß zu halten. Die Auswahl der Praxen in einem Gebiet, welches sich über zwei Bundesländer erstreckt, gab die zusätzliche Möglichkeit, eventuelle Tendenzen bezüglich des Einflusses der jeweiligen Zahnärztekammern zu erkennen.

6.1.2. Proteine

Die Herausforderung dieser Testgruppe bestand in erster Linie darin, ein geeignetes Verfahren zu finden, welches die Rückstände von den endodontischen Instrumenten entfernen konnte. Auch Smith et al. lösten Proteinrückstände von endodontischen Instrumenten mit Hilfe eines Ultraschallbads (Schalldauer: 30 Minuten). Der Nachweis fand anschließend mit

einem fluoreszierenden Assay, der auf einer Reaktion von Proteinen mit O-Phthaldialdehyd/ N-Acetyl Cystein basiert, statt (2005).

Lipscomb et al. bedienten sich in ihrer Untersuchung einer anderen Methode. Sie visualisierten Proteine auf Operationsinstrumentarium mit Hilfe Episkopischer Differential Interferenzkontrast Mikroskopie (EDIC) in Kombination mit einer fluoreszierenden Reagenz (SYPRO). Hier wurden an metallischen Oberflächen gebundene Proteinrückstände beurteilt (2006). Es ist fraglich, welche der beiden Methoden exaktere Ergebnisse erzielt. Die Beurteilung des Kontaminationsgrades direkt auf den Instrumenten ist entscheidend schwieriger abzuschätzen. Hingegen besteht nicht die Gefahr, dass das Endergebnis durch unzureichende Ablösung der Rückstände verfälscht wird.

Die Entscheidung, die Ablagerungen mit einem Ultraschallbad von den endodontischen Instrumenten zu lösen, fiel aus dem Grund, dass der Reinigungseffekt des Ultraschallbads in wissenschaftlichen Veröffentlichungen gute Ergebnisse erzielte (Van Eldik et al. 2004b, Filho et al. 2001). Zudem bot der Gebrauch eine kostengünstige und zuverlässige Methode, die Proteine in einem definierten Volumen in Lösung zu bringen.

Ein auftretendes Problem bei Reinigung im Ultraschallbad besteht darin, dass endodontische Feilen mitunter in Haltern oder Containern, zum Beispiel verpackt in flüssigkeitsgefüllte PET-Fläschchen, in das Bad gegeben werden. Es wurde aber nachgewiesen, dass die Dekontamination von Instrumenten in Containern – auch wenn diese perforiert sind – signifikant schlechtere Ergebnisse erzielt als Dekontamination ohne jegliches Behältnis (Van Eldik et al. 2004b). Man kann vermuten, dass die zur Reinigung benötigten Schallwellen durch die Wand des Behältnisses reflektiert werden oder ihre Energie verlieren und somit nicht ihre vollständige Wirkung entfalten können. Um dieses Szenario zu vermeiden, wurde jede einzelne Feile in einem zugehörigen Reaktionsgefäß mit einem Ultraschallansatz aktiviert. Damit auch hier die Schallleistung möglichst gering beeinflusst wurde, wurde darauf geachtet, dass die Ultraschallsonde weder mit dem endodontischen Instrument noch mit der Wand des Reaktionsgefäßes in Berührung kam. Die Schalldauer wurde auf 10 Minuten festgelegt, da oberhalb dieser Dauer keine Verbesserung der Reinigungswirkung festgestellt werden konnte (Aasim et al. 2006).

Obwohl für jede Probe eine vorab aufbereitete und sterilisierte Sonde verwendet wurde, bestand die theoretische Möglichkeit, dass sich auf dieser eventuell verbliebene Proteine befanden. Aus diesem Grund wurde vor der jeweiligen Probe ein korrespondierender Leerwert geschallt, welcher eine bestehende Kontamination der Ultraschallsonde bei der Beurteilung erkennbar machen sollte. Die Leerwerte dienten ausschließlich der Kontrolle und wurden nicht in die nachfolgende Auswertung mit einbezogen.

Es besteht eine Reihe von Möglichkeiten, Proteinrückstände auf Materialien oder in Lösungen nachzuweisen. Die Entscheidung einen Proteinassay zu nutzen, basierte auf der Möglichkeit, Proteine und deren Rückstände in Lösung photometrisch bestimmen zu können. Dabei stellte sich die Westernblot-Methode als drei bis vier Größen weniger sensitiv im Vergleich zum Nachweis durch Assays dar (Blanquet-Gossard F. et al. 2000). Die Anwendung eines Proteinassays garantierte durch die hohe Sensitivität somit die Erfassung von bereits geringen Mengen und war zudem wenig kompliziert und wenig anfällig für Anwendungsfehler.

Zusätzlich konnte durch die Auswertung einer Standardreihe eine genaue Bestimmung der Proteinmenge erreicht werden.

Ein Vorteil bei der Bestimmung von Proteinen bestand darin, dass die nachzuweisende Menge im Sinne einer Endpunkt-Messung vorlag. Dies bedeutet, dass sich der Messwert im Nachhinein weder verringert noch vermehrt.

6.1.3. Bakterien

Beim Nachweis von Bakterien auf endodontischen Instrumenten stellte sich die Frage, ob diese in einem flüssigen Medium oder auf einem festen Agar kultiviert werden sollten. Die Entscheidung für das flüssige Medium fiel aufgrund der Möglichkeit, die Feilen vollständig in der Lösung belassen zu können und somit das Ergebnis nicht durch unvollständiges Loslösen der Mikroorganismen von den Instrumenten zu verschleiern. Zudem hätte die schraubenähnliche Geometrie des Arbeitsteils der Feilen und Reamer zum Aufreißen beziehungsweise Herausreißen der Oberfläche des Agar geführt und das Verfahren (wie oft, lange und mit welchem Druck die Instrumente auf dem Agar gerollt wurden) schlecht reproduzierbar gemacht.

Die Wirksamkeit von Sterilisationsverfahren hinsichtlich der Elimination von Mikroorganismen wurde mehrfach demonstriert (Van Eldik et al. 2004a, Hurtt & Rossmann 1996). Trotzdem zeigte eine Untersuchung von Morrison et al. bakterielles Wachstum auf 12% der endodontischen Instrumente nach einer Reinigung mit Presept und Dampfautoklavieren (2009). Neben der Effektivität der Reinigung durch Dampfsterilisation stellt sich zudem die Frage nach einer geeigneten sterilen Lagerung der Instrumente bis zum Gebrauch.

Dementsprechend kam eine möglichst allgemeine Lösung im Sinne einer „all culture broth“ zur Verwendung. Die Brain Heart Infusion stellt eine Mehrzweck-Flüssigkeit dar, welche zur Kultivierung von anspruchsvollen und weniger anspruchsvollen, sowohl anaerobischen als auch aerobischen Mikroorganismen dient. Es lassen sich Bakterien wie *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacteroides fragilis* und *Haemophilus influenza* anzüchten (BD Technical Center). Mit diesem Spektrum konnte im weitesten Sinne die Keimbesiedelung von Mundhöhle, Händen und Luft in die Untersuchung einbezogen werden. Eine Studie von Roth et al. bewies zudem die Anwendbarkeit dieses Nährmediums beim Nachweis von Bakterien auf endodontischen Instrumenten (2006).

Natürlich muss bei der Auswahl des Nährmediums immer ein Kompromiss eingegangen werden. Als Bedingung für die vorliegende Studie wurde die Brain Heart Infusion Nährlösung in Kombination mit aerober Inkubation gewählt. Anaerobe Kultivierung hätte bei demselben Medium eventuell andere Ergebnisse erzielt.

Aus diesem Grund kann also angenommen werden, dass das Resultat dieser Studie eher eine Unterschätzung der eigentlichen Situation darstellt.

Auf eine Identifizierung der gewachsenen Keime wurde verzichtet, da die wahrscheinlich große Bandbreite, aber jeweilige geringe Anzahl der Mikroorganismen wenig aussagekräftig im Hinblick auf das Thema der Arbeit ist.

Trotz der Einfachheit, mit der Bakterien in flüssigen Medien angezüchtet werden können, ist dennoch ihr Nachweis in manchen Fällen schwierig. In der vorliegenden Studie wurde die Willkür der Entscheidung, ob eine Lösung getrübt vorlag oder nicht, durch die Verwendung eines Photometers

ausgeschaltet. Hiermit konnten aussagekräftige, nicht verfälschbare Messergebnisse erzeugt werden.

Die Hauptproblematik des Nachweises von Mikroorganismen lag darin, dass jede „negative“ Probe nach ausreichender Zeit ohne Zugabe von Antibiotikum ein positives Ergebnis erzielt. Aus diesem Grund wurde ein Zeitfenster von 24 Stunden festgelegt, wonach die Lösungen photometrisch gemessen wurden, um miteinander vergleichbare Werte zu erzeugen. Wenn eine Probe somit zu diesem Zeitpunkt ein negatives Ergebnis erzeugte, wurde diese auch als negativ gewertet.

6.2. Dekontaminationsmethoden in zahnärztlichen Praxen

Die Erhebung der Daten über Dekontaminationsmethoden in zahnärztlichen Praxen mit Hilfe von Fragebögen ist ein sehr sensibles Thema. Im Zweifel kann man davon ausgehen, dass die Praxen, die Studien dieser Art freiwillig zustimmen, sich in Belangen der Infektionsprävention und Hygiene relativ sicher und kompetent fühlen und deshalb ein Ergebnis, bezogen auf die Gesamtheit der Praxen, eventuell sogar schlechter ausfiele.

Der erste Schritt der Dekontamination in allen befragten Praxen war die manuelle Säuberung der endodontischen Instrumente. Nachteilig erscheint hierbei aber das bestehende Risiko von Stichverletzungen. Als ein weiteres Problem muss die Ausführung der Reinigung betrachtet werden, da die endodontischen Instrumente meist zwischen den Fingern gehalten und entlang der Längsachse gebürstet werden. Hierdurch bewegen sich die Borsten nicht entlang der Spanräume, sondern über diese hinweg. Zusätzlich ist auch nicht sicher gewährleistet, dass der gesamte Umfang des Instrumentes gesäubert wird (Parashos et al. 2004). Des Weiteren ist insbesondere die manuelle Reinigung, durch ihre Abhängigkeit von menschlicher Leistung und Verantwortungsbewusstsein, stark anfällig für Fehler in der Wiederaufbereitung. Trotz allem ist sie die weitaus am meisten vertretene Methode der Dekontamination (Bagg et al. 2007).

Uneinheitliche Ergebnisse bestehen auch hinsichtlich der Frage, ob Instrumente vor dem weiteren Dekontaminationsprozess feucht gelagert beziehungsweise eingeweicht werden müssen. Aasim et al. sind der Meinung, dass dieses Vorgehen keinen Einfluss auf das Endergebnis nehme (2006). Hingegen

befürworten Linsuwanot et al. (2004), Parashos et al. (2004), Sanchez et al. (1995) und Burkhart et al. (1997) diese Maßnahme und belegen sie mit besseren Reinigungsergebnissen gegenüber einer trockenen Lagerung. Die World Health Organization unterstützt diese Aussagen und empfiehlt feuchte Lagerung von Instrumenten zwischen der Exposition und den Dekontaminationsprozessen (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000).

Eine weitere Möglichkeit der Dekontamination ist der Thermodesinfektor, welcher eine nachweisbare mikrobielle Dekontamination (Van Eldik et al. 2004a) und in gewissem Maße mechanische Reinigung durch die einwirkenden Wasserstrahlen (Perakaki et al. 2007) gewährleisten kann. Ein solcher Thermodesinfektor wurde aber in der durchgeführten Umfrage in nur 23% der Praxen zur Aufbereitung von endodontischen Instrumenten genutzt. Der gleiche Prozentsatz an Praxen verwendete auch ein Ultraschallbad. Insgesamt gesehen zeigt dies ein Missverhältnis auf, da die Effizienz beider Methoden eindeutig bewiesen ist (Cafruny et al. 1995, Perakaki et al. 2007, Sanchez & Macdonald 1995, Walker et al. 2007) und sie als Bestandteil der Reinigungssequenz von großer Wichtigkeit sind (Parashos et al. 2004).

Zusätzlich stehen das große Angebot an unterschiedlichen Lösungen für die Desinfektion mit Hilfe des Ultraschallbads und die variierenden Zeitangaben einer einheitlichen und effektiven Verfahrensweise entgegen. Während bei enzymatischen Reinigern wie zum Beispiel EmPower eine Dauer von 2 Minuten angegeben wird, empfehlen andere Autoren 6-10 Minuten (Parashos et al. 2004, Burkhart & Crawford 1997, Cafruny et al. 1995, Miller 2002).

Auch der Wechsel der kontaminierten Reinigungslösung wird nach unserer Erhebung nicht ordnungsgemäß durchgeführt. Die Reinigungslösung wird durch organisches Material und chemische Rückstände verunreinigt und ist deshalb zur Vermeidung mikrobieller Vermehrung, nachhaltiger Kreuzkontamination und einer Beeinträchtigung der Reinigungsleistung mindestens arbeitstäglich frisch anzusetzen, bei sichtbarer Verschmutzung sofort zu wechseln. Aus den gleichen Gründen und zur Vermeidung von Biofilmbildung soll das Reinigungsbecken arbeitstäglich gründlich mechanisch gereinigt und desinfiziert werden (Zahnärztekammer Niedersachsen 2004). Obwohl der Austausch von großer Wichtigkeit für die Sauberkeit der Instrumente ist, wird

die Lösung in nur einer der sieben Praxen, die ein Ultraschallbad zur Reinigung endodontischer Feilen benutzen, täglich gewechselt, wodurch eine vollständige Dekontamination nicht gewährleistet werden kann. Ferner ist es entscheidend für das Endergebnis, dass die Feilen nachfolgend abgespült werden, so dass die kontaminierte Lösung entfernt wird (Burkhart & Crawford 1997).

Der Sterilisationsprozess mit Dampf stellt in der Reihenfolge der Aufbereitung einen validierbaren und zusätzlich weitaus effizienteren Prozess dar als die vorangegangenen Methoden. Ein Dampfsterilisator wurde zumindest in 83% der befragten Zahnarztpraxen zur Aufbereitung von Feilen und Reamern angewendet, die restlichen 5 Praxen nutzten keinen Autoklav. Hingegen sterilisierten 1996 nach einer Umfrage an der Ostküste der USA nur 53% der Befragten endodontischen Instrumente im Autoklav. 35% wandten eine chemische Sterilisation an, während die Übrigen eine Kombination aus Desinfektion und chemischer Sterilisation nutzten oder die Instrumente als Einwegmaterial ansahen (Gurevich et al. 1996). Trotz allem sollte als Ziel gesetzt werden, dass das Autoklavieren als universeller Standard in Praxen durchgeführt wird, solange endodontische Instrumente nicht als Einwegmaterial angesehen werden.

Durch die zuständigen Organisationen wie die Weltgesundheitsorganisation, das Robert Koch-Institut und andere wurden verschiedene Reinigungsprotokolle für die Aufbereitung von Medizinprodukten im Zusammenhang mit der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung veröffentlicht.

Zum Teil finden sich hier eine ganze Auswahl von Empfehlungen und Vorschriften, unter denen wiederholt Autoklavieren in variierenden Zyklen genannt wird (British Dental Association 2003, UK Department of Health 2009, World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000, Zahnärztekammer Niedersachsen 2004). Das Robert Koch – Institut gab hingegen an, dass die Autoklavierung, selbst bei 134°C für 18 Minuten, den Erreger bei hoher Ausgangsbelastung nicht inaktiviere (Robert Koch-Institut 2002). Diese Aussage stellt somit die Wirksamkeit der vorangegangenen Anordnungen infrage. Stattdessen wird vom Robert Koch-Institut Behandlung in 2,5-5% igem NaOCl für 24 Stunden oder Autoklavierung bei 134°C für 1h empfohlen (Zahnärztekammer Niedersachsen 2004).

Auch die Weltgesundheitsorganisation fordert Einlegen oder chemische Sterilisation mit NaOCl oder NaOH, um ausreichende Dekontamination zu erzielen (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000). Das UK Department of Health bezeichnet hingegen chemische Sterilisation als ineffektiv (British Dental Association 2003) und auch Taylor et al. stellten fest, dass 2M NaOCl die Kontamination zwar beträchtlich reduziere, aber trotzdem unzureichend war (1999). Zudem wurde nach Behandlung mit NaOCl Korrosion auf endodontischen Instrumenten entdeckt (Sonntag & Peters 2007).

In weiteren wissenschaftlichen Studien wurden Dekontaminationsmethoden für Verunreinigungen durch Proteine, insbesondere durch Prion-Proteine, getestet. Palacios et al. untersuchten den Säuberungseffekt von Formaldehyd / Ethanol und Autoklavieren bei 134°C-138°C für 18 Minuten (2007). Bedenklich war hierbei, dass Alkohol oder Formalin zu einer Fixierung von Proteinen und somit zu einer Erhöhung der Thermostabilität führten, so dass deren Entfernung zusätzlich erschwert wurde (Taylor 1999). Zudem ist Autoklavieren über einen Zeitraum von 18 Minuten – wie oben schon erwähnt – nicht ausreichend (Robert Koch-Institut 2002). Uneinigkeiten bestehen zusätzlich auch bei der Anwendung von Guanidin Thiocyanat, welches für die Desinfektion von Nickel-Titan-Instrumenten verwendet wurde (Sonntag & Peters 2007, Van Everbroeck et al. 1999), von der World Health Organization dagegen abgelehnt wurde (World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control 2000).

Nach erfolgter Dekontamination sollte die Wirksamkeit der Reinigung überprüft werden. In der durchgeführten Studie gaben alle befragten Praxen an, Instrumente zu kontrollieren, wobei lediglich 10% eine Vergrößerungshilfe nutzten. Ähnliche Ergebnisse erzielte eine Umfrage von Bagg et al., in der hingegen nur 85% den Prozess kontrollierten und 1% eine Lupe zur Hilfe nahm (2007). Zwar ist das visuelle Überprüfen der Sauberkeit der Instrumente ein nicht zu vernachlässigender Schritt, doch ist er bei endodontischen Instrumenten ohne Vergrößerungshilfen wenig ergiebig und sinnvoll. Es zeigte sich nämlich, dass sowohl Protein- als auch Bakterienrückstände auf Instrumenten nachgewiesen wurden, welche bei visueller Kontrolle nicht kontaminiert erschienen. Zudem wurden Ablagerungen auf ihrer Oberfläche

teilweise erst bei 45- bis 150facher Vergrößerung mit dem Mikroskop sichtbar (Zmener & Spielberg 1995, Parashos et al. 2004). Defekte Instrumente wurden in 100% der Fälle entsorgt, um Patienten nicht zu gefährden. In einer Studie von Letters et al. rangierten nur 92% der Praxen beschädigte Feilen aus (2005). Wie die restlichen 8% der Praxen vorgehen, war nicht ersichtlich.

Als dritter Schritt vor der Wiederverwendung von medizinischen Produkten kann, nach Säuberung und Sterilisation, die Lagerung angesehen werden. Nach deutschen Richtlinien wird für die Aufbewahrung von Instrumenten und Hilfsmitteln für chirurgische und endodontische Behandlungen kontaminationsgeschützte Lagerung in Schrank oder Schublade (trocken und staubdicht) gefordert. Die maximale Lagerfrist beträgt, laut DIN 58953 Teil 7 und 8, bei geschützter Lagerung mit einfacher Containerverpackung 6 Wochen, mit Klarsichtverpackung 6 Monate und mit Sterilgutlagerverpackung 5 Jahre (Zahnärztekammer Niedersachsen 2004).

63% der Zahnarztpraxen lagerten ihre Feilen und Reamer ausschließlich in Boxen sortiert in Schubladen. Nur eine dieser Praxen lagerte die Boxen maximal 8 Wochen, während die übrigen die Feilen nach wenigen Stunden bis maximal 4 Wochen in Gebrauch nahmen und sich somit im vorgeschriebenen Lagerungszeitraum befanden. Die Praxen, die die endodontischen Feilen und Reamer einfach beziehungsweise zweifach einschweißten, bewahrten diese im Ausnahmefall bis 6 Monate auf und befolgten somit die Vorschrift. Lediglich eine Praxis bewahrte die Feilen nicht in Schrank oder Schublade, sondern im Regal auf, dies aber über einen Zeitraum von unter 2 Wochen. In einer ähnlichen Studie von Smith et al. gaben 84% an, Instrumente in Schubladen zu lagern. Des Weiteren bejahten 32% aller Befragten die Aufbewahrung auf Regalen und wiederum 34% aller Praxen die Lagerung auf Arbeitsflächen (2007).

Die Aufbewahrung von endodontischen Instrumenten in Boxen bringt einen bedenkenswerten Nachteil mit sich: Durch leichte Zugänglichkeit der Feilen kann es unter Zeitdruck schneller auftreten, dass bei eventueller Beschädigung oder Fehlen von benötigten Instrumenten auf eine andere, sterile Box zugegriffen wird, ohne dass diese nachfolgend auch wiederaufbereitet wird. Die vorliegende Studie, insbesondere die Untersuchungen auf Bakterien, soll zusätzlich auch an eben diesem Punkt ansetzen, da Mängel in den Sortierungs- und

Lagerungsprozessen – die hier erwiesen wurden – wiederum zu Mängeln in der Umsetzung der Hygienerichtlinien führen. Es ist ungeklärt, ob die betroffenen Mikroorganismen Pathogenität aufweisen, doch können diese Vorkommnisse vorweg nicht außer Acht gelassen werden.

Eine Verbesserung der Hygienefähigkeit wäre unter Umständen auch die klare Zuordnung von einzelnen Instrumentensets zu jeweiligen Patienten. Fraglich ist hierbei aber wiederum die konsequente Einhaltung.

Verschiedene Untersuchungen kamen allesamt zu dem Ergebnis, dass endodontische Feilen und Reamer, welche nach dem klinischen Gebrauch wiederaufbereitet worden waren, Rückstände aufwiesen (Marending et al. 1998, Letters et al. 2005, Smith et al. 2002). Sicherlich ist nur chemische Desinfektion und Dampfautoklavieren in der Lage, Ablagerungen zu inaktivieren beziehungsweise zu denaturieren. Die tatsächliche Entfernung von Materialüberresten könnte theoretisch aber schon durch mechanische Reinigung - sei es manuelle Entfernung oder Säuberung durch einen Thermodesinfektor - erfolgen, weshalb dieser Schritt der Dekontamination nicht vernachlässigt werden sollte. Entsprechend konnte hierdurch in einer Studie das Übertragungsrisiko stark reduziert werden (von 31% auf 15% Kontamination) (Linsuwanont et al. 2004).

Die Problematik der Dekontaminationsmethoden spiegelt sich in der weltweit großen Anzahl an uneinheitlichen Richtlinien und unklaren Angaben, aber ebenso in der oft unzureichenden Durchführung wider. Wenn Standarddekontaminationsprozesse schon mangelhafte Ergebnisse erzielen, dann ist es ebenso ungeklärt, wie die Entfernung von Prion-Proteinen von endodontischen Instrumenten gewährleistet werden soll. Insbesondere weil bekannt ist, dass der Erreger der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit resistent gegen die Sterilisationsprozesse mit gängigen zahnärztlichen Systemen (Palacios-Sanchez et al. 2007, Smith et al. 2003, Taylor 1999) und auch gegen Ionisierung, UV-Licht und chemische Sterilisation ist (Taylor 1999).

6.3. Bedeutung für die Infektionsprävention

Mit der vorliegenden Studie wurde nachgewiesen, dass sich auf wiederaufbereiteten endodontischen Instrumenten sowohl Bakterien als auch Proteine befinden.

Im Vergleich der Proben zwischen den 30 Praxen zeigten sich signifikante Unterschiede im Kontaminationsgrad mit Bakterien und Proteinen. Die statistische Aussagekraft wird aber durch die hohe Anzahl von Praxen und die dabei geringe Anzahl von Feilen pro Praxis eingeschränkt. Trotzdem bilden wenige Instrumente aus vielen Praxen die Realität besser ab, als viele Instrumente aus wenigen Praxen und liefern somit ein durchschnittlich aussagekräftigeres Ergebnis. Zwischen den sechs Städten lagen bei der bakteriellen Besiedelung signifikante Ergebnisse vor, während sich bei Proteinen nur eine Tendenz zur Signifikanz zeigte. Die Bundesländer hingegen zeigten keine signifikanten Unterschiede auf.

Dass im Vergleich zwischen Niedersachsen und Hessen keine Signifikanz erkennbar war, könnte sich darauf zurückführen lassen, dass beide Bundesländer eine ähnliche Bandbreite von „hygienebewußten“ sowie „hygieneunbewußten“ Praxen und somit von unterschiedlich stark kontaminierten beziehungsweise nicht kontaminierten Instrumenten aufwies. Man kann annehmen, dass die Kontrolle der Hygiene- und Dekontaminationsrichtlinien, die auf Länderebene reguliert und überprüft werden, in beiden Bundesländern sehr ähnlich durchgeführt wird. Unterschiede sind eher in der Umsetzung von Richtlinien der Landes Zahnärztekammer, des Robert Koch-Instituts oder der WHO durch die Praxen zu vermuten. Fraglich ist hierbei, ob diese Richtlinien in vielen Praxen nicht ausreichend durchgeführt werden oder unter Umständen nicht durchgeführt werden können, da sie eventuell für den alltäglichen Ablauf in Zahnarztpraxen nicht praktikabel erscheinen. Genau dies beschreibt einen sehr wichtigen Konfliktpunkt in der heutigen Durchführung und Durchsetzung von Hygiene- und Aufbereitungsvorschriften. Möglicherweise bieten Bestandteile des Qualitätsmanagements klarere Anforderungen an Praxen. Andererseits fällt aber auch auf, dass eine Anzahl von Zahnarztpraxen offensichtlich – wie die Ergebnisse zeigen – in der Lage ist, die Dekontamination erfolgreich zu gewährleisten. Hiermit entfällt die Frage, ob die Dekontaminationsmethoden an sich durchführbar sind.

Das Risiko der Kreuzkontamination aufgrund der Verwendung von verunreinigten Instrumenten ist immer von der Menge des übertragenen Erregers und der Wirtsresistenz abhängig (Kohn et al. 2003). Zobeley et al.

zeigten in einer Studie, dass mit Prionen infizierte Edelstahldrähte, welche im Tierversuch implantiert worden waren, die Krankheit übertrugen. Hier stellt sich die Frage, ob die Infektion durch Desorption von dem Edelstahl hervorgerufen wurde oder ob der Erreger im gebundenen Zustand alleinig die Erkrankung schon initiieren kann (1999). Zudem könnte das verwendete Material Einflüsse auf die Übertragung haben. Reicht also der zeitlich begrenzte Kontakt mit einem infizierten Instrument, wie es bei einer Wurzelkanalbehandlung der Fall ist, schon aus, oder ist eine vergleichbare Dauer einer Implantation vonnöten, um die Übertragung zu gewährleisten? Ein weiterer nicht zu vernachlässigender Faktor ist der enge Kontakt und die mechanische Reibung zwischen eventuell infizierten Instrumenten und Patientengewebe, welche eine Übertragung durchaus begünstigen könnte. Schneider et al. wiesen Prion-Proteine in Odontoblasten, Zementoblasten, Nervenfasern und Malassez'schen Epithelresten nach. Diese könnten, im Falle einer Exposition, eventuell in der Lage sein, Prionen zu verbreiten und somit eine Schnittstelle zwischen oral aufgenommenen Prion-Proteinen und dem zentralen Nervensystem über das Ganglion Trigeminale zu bilden (2007). Wie groß ist demnach die Kontaktfläche von Instrument und infiziertem Patientengewebe während einer Behandlung und welche Wichtigkeit, verglichen zum Beispiel mit dem zeitlichen Faktor, muss ihr zugestanden werden?

Gesetzt den Fall, dass die Pulpa Infektiosität enthält, ist die Wahrscheinlichkeit der Übertragung der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit durch endodontische Instrumente, die mit derzeit in Zahnarztpraxen angewendeten Dekontaminationsmethoden gereinigt werden, hoch. Allein das augenblicklich bestehende hypothetische Risiko der Kreuzkontamination wäre durch den Gebrauch von Einweginstrumenten ausgeschaltet.

Ein sehr wichtiger Aspekt der Infektionsprävention stellt zudem die Erkennung von Risikopatienten dar. Nicht nur im Zusammenhang mit der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, sondern auch mit anderen Krankheiten sollte besonderes Augenmerk auf die sorgfältige Erhebung der Anamnese gelegt werden und spezifische Fragen zu Symptomen der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien hinzugefügt werden.

Die auffälligen Diskrepanzen bei der Risikoeinschätzungen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit durch die zuständigen Behörden und Organisationen

offenbaren den noch bestehenden Forschungsbedarf auf diesem Gebiet. Die Weltgesundheitsorganisation gab bekannt, dass in Bezug auf die Infektiosität und das bestehende Risiko durch die Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung kein Konsens gefunden werden konnte (World Health Organization 2003).

Nicht ohne Grund war Großbritannien das Land, welches bislang alleinig endodontische Instrumente aufgrund ihres potentiellen Infektionsrisikos als Einweginstrumente klassifizierte, da es von der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit am stärksten betroffen war. Somit konnte an dem bislang einzigen beherrschbaren Punkt des bestehenden Risikos angegriffen und es vollständig – zumindest in Bezug auf endodontische Feilen und Reamer – eliminiert werden.

6.4. Schlussfolgerung

Zurzeit liegen keine ausreichenden wissenschaftlichen Ergebnisse vor, welche das Infektionsrisiko der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung abschließend beurteilen und zudem verlässliche Dekontaminationsmethoden für endodontische Instrumente vorgeben können. In dieser und anderen Studien wurden organische und anorganische Rückstände auf aufbereiteten Feilen und Reamern nachgewiesen, welche eine Übertragung von Erregern ermöglichen könnten. Solange die wissenschaftlich belegte Dekontamination ohne Schädigung der Instrumente nicht erzielt und das potentielle Risiko der Infektion nicht ausgeschlossen werden kann, ist die Einmalnutzung von endodontischen Instrumenten ein nachweislich sicherer Ausweg.

7. Zusammenfassung

7.1. Zusammenfassung deutsch

Untersuchung des Kontaminationsgrades von Wurzelkanalinstrumenten in Zahnarztpraxen

Brilmayer, M.

Das Übertragungsrisiko der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung durch unzureichend gereinigte endodontische Instrumente, mit denen potentiell infektiöses Nervengewebe entfernt wurde, wird zunehmend diskutiert.

Ziel dieser Studie war es zu überprüfen, ob sich auf benutzten und wieder aufbereiteten Wurzelkanalinstrumenten Rückstände von Proteinen und Bakterien nachweisen lassen. Fragebögen gaben Auskunft über Aufbereitungs- sowie Lagerungsmethoden. 300 endodontische Handinstrumente (je 10 aus 30 Praxen, je 3 Städte in Niedersachsen und Hessen) wurden in die Studie einbezogen. Je 5 der 10 Instrumente einer Praxis wurden randomisiert auf zwei Untersuchungsgruppen aufgeteilt, denen jeweils eine Kontrollgruppe mit 30 Instrumenten hinzugefügt wurde.

Für die Untersuchung der Gruppe 1 auf Proteine wurden die Feilen in je ein Reaktionsgefäß mit 1000µl Aqua dest. sortiert und mit einer Ultraschallsonde (US) aktiviert, um die Proteine von den Instrumenten zu lösen. Zum Nachweis der Proteinmengen wurden alle Proben in einem Vakuumgerät vollständig eingedampft, anschließend auf 120µl aufgefüllt und mit 30µl BioRad-Assay dye reagent concentrate versetzt. 80µl jeder Probe wurden photometrisch (Wellenlänge 600nm) gemessen. Die quantitative Bestimmung der Proteinmengen wurde anhand einer Standardreihe errechnet. Die übrigen 180 Instrumente der Gruppe 2 wurden mittels Brain Heart Infusion Broth auf bakterielles Wachstum untersucht. Hierzu wurden die Feilen in Rundbodenröhrchen mit 5ml des Mediums für 24h bei 37°C unter aeroben Bedingungen in einem Wasserbad mit 196 Umdrehungen pro Minute inkubiert. Die Proben wurden anschließend photometrisch (Wellenlänge 600nm) ausgewertet. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS18.0.

Auf 62,7% der Feilen befanden sich Rückstände von Proteinen (Minimum:

0,12µg; Maximum: 14,40µg). Bakteriellles Wachstum konnte auf 22,7% (34 von 150) der getesteten Instrumente nachgewiesen werden. Im Vergleich zeigten die zwei Bundesländer keine signifikanten Unterschiede (Proteine: $p = 0,167$, Bakterien: $p = 0,324$). Die Städte wiesen bei Proteinen eine Tendenz zur Signifikanz ($p = 0,092$), bei Bakterien signifikante Unterschiede ($p = 0,024$) auf. Bei der bakteriellen Kontamination fiel die große Bandbreite der Werte der 75. Perzentile auf, welche zwischen 0,00350 und 1,36550 lagen. Die Praxen wiesen wie erwartet große Unterschiede bei Protein- und Bakterienmengen auf. Eine Aussage zur statistischen Signifikanz der vorgefundenen Unterschiede einzelner Praxen lässt sich aufgrund der Fallzahl nicht zuverlässig treffen. Die Auswertung der Fragebögen offenbarte uneinheitliche Methoden der Aufbereitungs- und Lagerungsprozesse.

Das Vorhandensein bakterieller und proteinhaltiger Rückstände auf endodontischen Instrumenten wirft Fragen hinsichtlich des Übertragungsrisikos von Erkrankungen, insbesondere der Creutzfeldt-Jakob Krankheit auf. Die nichtsignifikanten Unterschiede zwischen den Bundesländern sind dadurch erklärbar, dass es vermutlich eine gleichmäßige Verteilung von „hygienebewußten“ (mit nicht kontaminierten Instrumenten) sowie „hygieneunbewußten“ (mit stark kontaminierten Instrumenten) Praxen gibt. Sterilisation ist nachweislich wirksam gegen bakterielle Rückstände, weshalb aufgrund der vorliegenden Ergebnisse Mängel in Lagerungsprozessen vermutet werden müssen. Der Erreger der Creutzfeldt-Jakob Krankheit hingegen kann laut Robert Koch-Institut bei hoher Ausgangsbelastung nicht durch Autoklavieren bei 134°C für 18 Minuten vollständig inaktiviert werden. Trotzdem ist diese Sterilisation mit graduellen Unterschieden ein regelmäßiger Bestandteil der Empfehlungen zur Aufbereitung endodontischer Instrumente.

Die Problematik der Dekontaminationsmethoden spiegelt sich in der großen Anzahl an uneinheitlichen Richtlinien und unklaren Angaben, aber ebenso in der unzureichenden Durchführung wider. Solange keine wissenschaftlich nachgewiesene und im Praxisalltag erprobte Dekontaminationsmethode für endodontische Instrumente bekannt ist, kann als sicherer Ausweg nur der Einmalgebrauch dieser Instrumente gesehen werden. Durch die Einmalanwendung werden jedoch neue Fragen in Bezug auf Wirtschaftlichkeit und Umweltfreundlichkeit aufgeworfen.

7.2. Zusammenfassung englisch

An investigation of the contamination levels of endodontic instruments in dental surgeries

Brilmayer, M.

The risk of transmission of the Creutzfeldt-Jakob disease by insufficiently cleaned endodontic instruments, previously used to remove potentially infectious neural tissue, is now being discussed increasingly.

The aim of this study is to investigate whether residue of proteins and bacteria are present on used and reprocessed endodontic instruments. Questionnaires provided information on reprocessing and storage methods in dental offices. 300 endodontic hand instruments (10 each from 30 practices in three cities, each in Lower Saxony and Hessen) were tested in this study. 5 of the 10 instruments from one practice were randomly distributed between two testgroups. 30 control instruments were added to each group.

For the detection of protein residue the files of the first group were assorted to one Eppendorfcup each, containing 1000µl of distilled water. To dissolve potentially existing proteins from the files, all probes were activated ultrasonically. In order to detect small amounts of protein, all samples were subsequently evaporated in a vacuum device, then diluted to 120µl and mixed with 30µl BioRad assay dye reagent concentrate. 80µl of each sample were measured using a photometer at a wave length of 600nm. The exact quantitative amount of protein was calculated using a standard curve.

The remaining 180 instruments of the second group were examined for bacterial growth using the Brain Heart Infusion broth. For this purpose all files were incubated in test tubes with 5ml of the medium for 24 hours at 37°C under aerobic conditions in a water bath. The samples were then evaluated photometrically at a wave length of 600nm. The statistical data was analysed using the program SPSS18.0.

62.7% of the files showed residue of proteins (minimum: 0.12µg; maximum: 14.40µg). Bacterial growth was detected on 22.7% (34 of 150) of the tested instruments. Comparing Lower Saxony and Hessen there appeared to be no significant differences (protein: $p = 0.167$, bacteria: $p = 0.324$). The cities showed a tendency towards differences in proteins ($p = 0.092$) and in bacteria

significant differences ($p = 0.024$). Especially the great range of values of the 75. percentile stood out, extending from 0.00350 to 1.36550. The practices showed, as expected, great differences in protein and bacteria levels. Considering the low number of cases, a reliable statement on the statistical significance of the differences between practices can not be made. The evaluation of the questionnaires showed inconsistent results regarding the methods of reprocessing and storage.

The presence of bacterial and protein residue on endodontic instruments raises questions about the risk of transmission of diseases, in particular of the Creutzfeldt-Jakob disease. The non significant differences between the two states can be explained by the fact that there probably is a steady distribution of “hygiene-aware” and “hygiene-unaware” practices and therefore a variety of greatly contaminated or not contaminated instruments. Sterilization is proven to be effective against bacterial residue, which – according to the results of this study - leads to the assumption that there are shortcomings in the storage process in dental practices. However, according to the Robert Koch-Institut the infectious agent of the Creutzfeldt-Jakob disease cannot be inactivated completely by autoclaving at 134°C for 18 minutes. Nevertheless, autoclaving remains standard practice and part of the recommended decontamination process of endodontic instruments.

The problem of decontamination methods is reflected in the large number of nonuniform policies and unclear information, but also in the inadequate execution. As long as there is no scientifically proven and practically tested decontamination method known for endodontic instruments, single use of these instruments should be recommended. This, however, will create additional costs as well as environmental concerns.

8. Literaturverzeichnis

Aasim, S.A., Mellor, A.C. & Qualtrough, A.J., 2006, The effect of pre-soaking and time in the ultrasonic cleaner on the cleanliness of sterilized endodontic files, *International Endodontic Journal*, 39(2), pp. 143-9.

Aassaf, M., Mellor, A.C. & Qualtrough, A.J., 2008, Cleaning endodontic files in a washer disinfectant, *British Dental Journal*, 204(10), E17; discussion pp. 562-3.

Australian / New Zealand Standard, 2003, Cleaning, disinfecting and sterilizing reusable medical and surgical instruments and equipment, and maintenance of associated environments in health care facilities, *Australian/New Zealand Standard 4187:2003*, <http://www.standards.co.nz> (Stand: 10.03.2010).

Azarpazooch, A. & Leake, J.L., 2006, Prions in dentistry - what are they, should we be concerned, and what can we do? *Journal Canadian Dental Association*, 72(1), pp. 53-60.

Bagg, J., Smith, A.J., Hurrell, D., McHugh, S. & Irvine, G., 2007, Pre-sterilisation cleaning of re-usable instruments in general dental practice, *British Dental Journal*, 202(9), E22; discussion pp. 550-1.

Bagg, J., Sweeney, C.P., Roy, K.M., Sharp, T. & Smith, A., 2001, Cross infection control measures and the treatment of patients at risk of Creutzfeldt Jakob disease in UK general dental practice, *British Dental Journal*, 191(2), pp. 87-90.

Barry Cockcroft, Chief Dental Officer for England, 2007, Important: Advice for dentists on re-use of endodontic instruments and variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD), *Department of Health, Gateway Approval Reference No.: 8100*.

Bartz, J.C., Kincaid, A.E. & Bessen, R.A., 2003, Rapid prion neuroinvasion following tongue infection, *Journal of Virology*, 77(1), pp. 583-91.

Baumgartner, J.C. & Falkler, W.A., 1991, Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals, *Journal of Endodontics*, 17(8), pp. 380-3.

BD Technical Center, Brain Heart Infusion Broth, Section III B, pp. 89-91, Stand http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/Brain_Heart_Infusion_Broth3.pdf (Stand: 24.03.2010).

Berber, V.B., Gomes, B.P., Sena, N.T., Vianna, M.E., Ferraz, C.C., Zaia, A.A. & Souza-Filho, F.J., 2006, Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules, *International Endodontic Journal*, 39(1), pp. 10-17.

Bernoulli, C., Siegfried, J., Baumgartner, G., Regli, F., Rabinowicz, T., Gajdusek, D.C. & Gibbs, C.J., 1977, Danger of accidental person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by surgery, *Lancet*, 309(8009), pp. 478-9.

Blanquet-Gossard F., Sazdovitch V., Jean A., Deslys J.-P., Dormont D., Hauw J.-J., Marion D., Brown P., Cesbron J.-Y., 2000, Prion Protein is not detectable in dental pulp from patients with Creutzfeldt-Jakob Disease, *Journal of Dental Research*, 79(2), p. 700.

British Dental Association, 2003, Infection control in dentistry, Advice Sheet A12, *BDA Advice*.

<http://www.dh.gov.uk> (Stand: 05.03.2010).

Burkhart, N.W. & Crawford, J., 1997, Critical steps in instrument cleaning: removing debris after sonication, *Journal of the American Dental Association* (1939), 128(4), pp. 456-63.

Cafruny, W.A., Brunick, A., Nelson, D.M. & Nelson, R.F., 1995, Effectiveness of ultrasonic cleaning of dental instruments, *American Journal of Dentistry*, 8(3), pp. 152-6.

Chianello, G., Specian, V.L., Hardt, L.C., Raldi, D.P., Lage-Marques, J.L. & Habitante, S.M., 2008, Surface finishing of unused rotary endodontic instruments: a SEM study, *Brazilian Dental Journal*, 19(2), pp. 109-13.

Department of Health, Guidance on single-use instruments for endodontic procedures, *Primary Dental Care Services*, Gateway approval reference: 8304 (Stand: 01.03.2010).

Department of Health; Economics and Operational Research Division (EOR4), 2003, Risk assessment for vCJD and dentistry, <http://www.dh.gov.uk> (Stand: 23.02.2010).

Dunn, D., 2002, Reprocessing single-use devices - regulatory roles, *Association of periOperative Registered Nurses (AORN) Journal*, 76(1), pp. 100-6, 108-12, 114 passim; 129-32.

Eggert, C., Peters, O. & Barbakow, F., 1999, Wear of nickel-titanium lightspeed instruments evaluated by scanning electron microscopy, *Journal of Endodontics*, 25(7), pp. 494-7.

Ernst, D.R., Race, R.E., 1993, Comparative analysis of scapie agent inactivation methods, *Journal of Virological Methods*, 41, pp. 193-202.

Everington, D., Smith, A.J., Ward, H.J., Letters, S., Will, R.G. & Bagg, J., 2007, Dental treatment and risk of variant CJD - a case control study, *British Dental Journal*, 202(8), E19; discussion pp. 470-1.

Fabricius, L., Dahlen, G., Ohman, A.E. & Möller, A.J., 1982, Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure, *Scandinavian Journal of Dental Research*, 90(2), pp. 134-44.

Ferreira Murgel, C.A., Walton, R.E., Rittman, B. & Pecora, J.D., 1990, A comparison of techniques for cleaning endodontic files after usage: a quantitative scanning electron microscopic study, *Journal of Endodontics*, 16(5), pp. 214-7.

Filho, M.T., Leonardo, M.R., Bonifacio, K.C., Dametto, F.R. & Silva, A.B., 2001, The use of ultrasound for cleaning the surface of stainless steel and nickel-titanium endodontic instruments, *International Endodontic Journal*, 34(8), pp. 581-5.

Gnau, H.L., Goodell, G.G. & Imamura, G.M., 2009, Rapid chairside sterilization of endodontic files using 6% sodium hypochlorite, *Journal of Endodontics*, 35(9), pp. 1253-4.

Gordon, B.L., Burke, F.J., Bagg, J., Marlborough, H.S. & McHugh, E.S., 2001, Systematic review of adherence to infection control guidelines in dentistry, *Journal of Dentistry*, 29(8), pp. 509-16.

Gurevich, I., Dubin, R. & Cunha, B.A., 1996, Dental instrument and device sterilization and disinfection practices, *Journal of Hospital Infection*, 32(4), pp. 295-304.

Head, M.W., Ritchie, D., McLoughlin, V. & Ironside, J.W., 2003, Investigation of PrP^{res} in dental tissues in variant CJD, *British Dental Journal*, 195(6), discussion 331; pp. 339-43.

Heeg, P., Roth, K., Reichl, R., Cogdill, C.P. & Bond, W.W., 2001, Decontaminated single-use devices: an oxymoron that may be placing patients at risk for cross-contamination, *Infection Control and Hospital Epidemiology: The Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America*, 22(9), pp. 542-9.

Hurt, C.A. & Rossman, L.E., 1996, The sterilization of endodontic hand files, *Journal of Endodontics*, 22(6), pp. 321-2.

Ingrosso, L., Pisani, F. & Pocchiari, M., 1999, Transmission of the 236K scrapie strain by the dental route, *Journal General Virology*, 80, pp. 3043-7.

Ironside, J.W., McCardle, L., Horsburgh, A., Lim, Z. & Head, M.W., 2002, Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease, *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica (Apmis)*, 110(1), pp. 79-87.

Johnson, M.A., Primack, P.D., Loushine, R.J. & Craft, D.W., 1997, Cleaning of endodontic files, Part I: The effect of bioburden on the sterilization of endodontic files, *Journal of Endodontics*, 23(1), pp. 32-4.

Keogh, P.V. & Flint, S.R., 2004, Transmissible spongiform encephalopathies and dentistry, *Journal of the Irish Dental Association*, 50(4), pp. 160-2.

Kohn, W.G., Collins, A.S., Cleveland, J.L., Harte, J.A., Eklund, K.J., Malvitz, D.M., Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2003, Guidelines for infection control in dental health-care settings, *Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report*, 52(RR-17), pp. 1-61.

Landeszahnärztekammer Hessen, 2006, Einstufung der Medizinprodukte (MP) in Risikogruppen nach RKI (Stand: 01.08.2010).

Letters, S., Smith, A.J., McHugh, S. & Bagg, J., 2005, A study of visual and blood contamination on reprocessed endodontic files from general dental practice, *British Dental Journal*, 199(8), discussion 513; pp. 522-5

Lewis, D.L., Arens, M., Appleton, S.S., Nakashima, K., Ryu, J., Boe, R.K., Patrick, J.B., Watanabe, D.T. & Suzuki, M., 1992, Cross-contamination potential with dental equipment, *Lancet*, 340(8830), pp. 1252-4.

Linsuwanot, P., Parashos, P. & Messer, H.H., 2004, Cleaning of rotary nickel-titanium endodontic instruments, *International Endodontic Journal*, 37(1), pp. 19-28.

Lipscomb, I.P., Sihota, A.K., Botham, M., Harris, K.L. & Keevil, C.W., 2006, Rapid method for the sensitive detection of protein contamination on surgical instruments, *The Journal of Hospital Infection*, 62(2), pp. 141-8.

Lowe, A.H., Burke, F.J., McHugh, S. & Bagg, J., 2002, A survey of the use of matrix bands and their decontamination in general dental practice, *British Dental Journal*, 192(1), pp. 40-2.

Landeszahnärztekammer Baden-Württemberg, 2008, Leitfaden zur Organisation der Hygienemaßnahmen, www.lzkbw.de (Stand: 09.06.2010).

Manuelidis, E.E., Angelo, J.N., Gorgacz, E.J. & Manuelidis, L., 1977, Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease to Syrian hamster, *Lancet*, 309(8009), p. 479.

Mareending, M., Lutz, F. & Barbakow, F., 1998, Scanning electron microscope appearances of Lightspeed instruments used clinically: a pilot study, *International Endodontic Journal*, 31(1), pp. 57-62.

Martins, R.C., Bahia, M.G.A. & Buono, V.T.L., 2002, Surface analysis of ProFile instruments by scanning electron microscopy and X-ray energy-dispersive spectroscopy: a preliminary study, *International Endodontic Journal*, 35(10), pp. 848-53.

Miller, C.H., 2002, Tips on preparing instruments for sterilization, *American Journal of Dentistry*, 15(1), p. 66.

Mitteilung des Robert Koch-Institutes 2004, Vorwort und Einleitung der Kommission zur Richtlinie für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Springer Verlag 2004, 47(4), pp. 409-11.

Morrison, A. & Conrod, S., 2009, Dental burs and endodontic files: are routine sterilization procedures effective? *Journal Canadian Dental Association*, 75(1), p. 39.

National Dental Advisory Committee, 2007, Cleaning of dental instruments, Dental Clinical Guidance, Scottish Dental Clinical Effectiveness Programme (SDCEP).

<http://www.sdcep.org.uk> (Stand: 03.03.2010).

New South Wales Department of Health, 2007, Infection Control Policy

http://www.health.nsw.gov.au/policies/pd/2007/pdf/PD2007_036.pdf

(Stand: 09.03.2010)

Palacios-Sánchez, B., Esparza-Gome, G.C., Campo-Teapero, J. & Cerero-Lapiedra, R., 2007, Implications of prion diseases for dentistry: an update, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 105(3); pp. 316-320.

Parashos, P., Linsuwanot, P. & Messer, H.H., 2004, A cleaning protocol for rotary nickel-titanium endodontic instruments, *Australian Dental Journal*, 49(1), pp. 20-7.

Peciuliene, V., Reynaud, A.H., Balciuniene, I. & Haapasalo, M., 2001, Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis, *International Endodontic Journal*, 34(6), pp. 429-34.

Perakaki, K., Mellor, A.C. & Qualtrough, A.J., 2007, Comparison of an ultrasonic cleaner and a washer disinfectant in the cleaning of endodontic files, *The Journal of Hospital Infection*, 67(4), pp. 355-9.

Pinheiro, E.T., Gomes, B.P.F.A., Ferraz, C.C.R., Sousa, E.L.R., Teixeira, F.B. & Souza-Filho, F.J., 2003, Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions, *International Endodontic Journal*, 36(1), pp. 1-11.

Porter, S.R., 2003, Prion disease: Possible implications for oral health care, *The Journal of the American Dental Association*, 134(11), p. 1486.

Rappe, M.S. & Giovanni, S.J., 2003, The uncultured microbial majority, *Annual Review of Microbiology* (57), pp. 369-94.

Robert Koch - Institut, 2001, Prävention von nosokomialen Infektionen und Krankenhaushygiene im Infektionsschutzgesetz, <http://www.rki.de> (Stand: 08.03.2010).

Robert Koch - Institut (RKI) und Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), 2004, Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten, *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, Springer Verlag 2004, 47(10), p. 1021.

Robert Koch - Institut, 2002, Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK). Epidemiologie, Erkennung, Diagnostik und Prävention unter besonderer Berücksichtigung der Risikominimierung einer iatrogenen Übertragung durch Medizinprodukte, insbesondere chirurgische Instrumente, *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Springer Verlag 2002, 45, pp. 376-94.

Robert Koch - Institut, 2006, Infektionsprävention in der Zahnheilkunde- Anforderungen an die Hygiene, Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut, *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Springer Verlag 2006, 49(4), pp. 375-94.

Roth, T.P., Whitney, S.I., Walker, S.G. & Friedman, S., 2006, Microbial contamination of endodontic files received from the manufacturer, *Journal of Endodontics*, 32(7), pp. 649-51.

Rutala, W.A. & Weber, D.J., 2001, Creutzfeldt-Jakob disease: recommendations for disinfection and sterilization, *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(9), pp. 1348-56.

Rutala, W.A., Gergen, M.F., Jones, J.F. & Weber, D.J., 1998, Levels of microbial contamination on surgical instruments, *American Journal of Infection Control*, 26(2), pp. 143-5.

Sanchez, E. & MacDonald, G., 1995, Decontaminating dental instruments: testing the effectiveness of selected methods, *Journal of the American Dental Association* (1939), 126(3), pp. 359-62, 364, 366 passim.

Schneider, K., Korkmaz, Y., Addicks, K., Lang, H. & Raab, W.H., 2007, Prion protein (PrP) in human teeth: an unprecedented pointer to PrP's function, *Journal of Endodontics*, 33(2), pp. 110-3.

Scotland, National Health Service, 2004, Sterile Services Provision Review Group: Survey of Decontamination in General Dental Practice.
www.sehd.scot.nhs.uk/publications/dc20041202dental.pdf (Stand: 03.03.2010).

Segall, R.O., Del Rio C.E., Brady, J.M. & Ayer, W.A., 1977, Evaluation of débridement techniques for endodontic instruments, *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 44(5), pp. 786-91.

Simon, D. & Pauli, G., 1998, Krankenversorgung und Instrumentensterilisation bei CJK-Patienten und CJK-Verdachtsfällen, *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Springer Verlag 1998, 41(7), pp. 279-85.

Sjögren, U., Figdor, D., Spångberg, L. & Sundqvist, G., 1991, The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing, *International Endodontic Journal*, 24(3), pp. 119-25.

Smith, A., Dickson, M., Aitken, J. & Bagg, J., 2002, Contaminated dental instruments, *Journal of Hospital Infection*, 51(3), pp. 233-5.

Smith, A., Letters, S., Lange, A., Perret, D., McHugh, S. & Bagg, J., 2005, Residual protein levels on reprocessed dental instruments, *The Journal of Hospital Infection*, 61(3), pp. 237-41.

Smith, A.J. & Martin, M.V., 2000, Managing patients with TSEs, *British Dental Journal*, 189(2), p. 62.

Smith, A.J., Bagg, J., Hurrell, D. & McHugh, S., 2007, Sterilization of re-usable instruments in general dental practice, *British Dental Journal*, 203(8), E16.

Smith, A.J., Bagg, J., Ironside, J.W., Will, R.G. & Scully, C., 2003, Prions and the oral cavity, *Journal of Dental Research*, 82(10), pp. 769-75.

Sonntag, D. & Peters, O.A., 2007, Effect of prion decontamination protocols on nickel-titanium rotary surfaces, *Journal of Endodontics*, 33(4), pp. 442-6.

Spencer, R.C. & Perry, C., 2001, Decontamination of reusable surgical instruments, *Journal of Hospital Medicine*, 62(11), pp. 662-3.

Sundqvist, G., Johansson, E. & Sjögren, U., 1989, Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections, *Journal of Endodontics*, 15(1), pp. 13-19.

Taguchi, F., Tamai, Y., Uchida, K., Kitajima, R., Kojima, H., Kawaguchi, T., Ohtani, Y., Miura, S., 1991, Proposal for a procedure for complete inactivation of the Creutzfeldt-Jakob disease agent, *Archives of Virology*, Springer Verlag 1991, 119, pp. 297-301.

Taylor, D.M., 1999, Inactivation of prions by physical and chemical means, *The Journal of Hospital Infection*, 43 Suppl, pp. S69-76.

UK Department of Health, 2007, Dentistry and vCJD: The implications of a "carrier state" for a self-sustaining epidemic due to endodontic dentistry, A Preliminary Assessment. <http://www.dh.gov.uk> (Stand: 03.03.2010).

UK Department of Health, 2009, Transmissible Spongiform Encephalopathies Agents: Safe Working and the Prevention of Infection: Annex C. <http://www.dh.gov.uk> (Stand: 03.03.2010).

Van Eldik, D.A., Zilm, P.S., Rogers, A.H. & Marin, P.D., 2004a, Microbiological evaluation of endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures, *Australian Dental Journal*, 49(3), pp. 122-127.

Van Eldik, D.A., Zilm, P.S., Rogers, A.H. & Marin, P.D., 2004b, A SEM evaluation of debris removal from endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures, *Australian Dental Journal*, 49(3), pp. 128-135.

Van Everbroeck, B., Pals, P., Martin, J.J. & Cras, P., 1999, Antigen retrieval in prion protein immunohistochemistry, *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 47(11), pp. 1465-70.

Walker, J.T., Dickinson, J., Sutton, J.M., Marsh, P.D. & Raven, N.D.H., 2008, Implications for Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) in Dentistry: a review of current knowledge, *Journal of Dental Research*, 87(6), pp. 511-519.

Walker, J.T., Dickinson, J., Sutton, J.M., Raven, N.D. & Marsh, P.D., 2007, Cleanability of dental instruments - implications of residual protein and risks from Creutzfeldt-Jakob disease, *British Dental Journal*, 203(7), pp. 395-401.

Watmough, D.J., 1994, Role of ultrasonic cleaning in control of cross-infection in dentistry, *Ultrasonics*, 32(4), pp. 315-7.

Whitworth, C.L., Davies, K. & Palmer, N.O., 2009, Can protein contamination be removed from hand endodontic instruments? *Primary Dental Care*, 16, pp. 7-12.

World Health Organization, 2003, WHO manual for surveillance of human transmissible spongiform encephalopathies including variant Creutzfeldt-Jakob disease.

<http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545887.pdf> (Stand: 03.03.2010).

World Health Organization; Communicable Disease Surveillance and Control, 2000, Infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies.

<http://www.who.int/csr/resources/publications/bse/whocdscsraph2003.pdf>
(Stand: 23.03.2010).

World Health Organization, 2006, WHO guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies.

<http://www.who.int> (Stand: 07.03.2010).

Zahnärztekammer Niedersachsen, 2004, 5.2.5. Hygieneplan/ Betriebsanweisung für die Zahnarztpraxis, Medizinprodukte "kritisch B" (invasive Maßnahmen), Was? Wie? Womit? Wann? Wer?, *Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderung an die Hygiene, Handbuch der Zahnärztekammer Niedersachsen*, pp. 40-4, p.127.

Zerr, I., Brandel, J.P., Masullo, C., Wientjens, D., de Silva, R., Zeidler, M., Granieri, E., Sampaolo, S., van Duijn, C., Delasnerie-Laupretre, N., Will, R. & Poser, S., 2000, European surveillance on Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study for medical risk factors, *Journal of Clinical Epidemiology*, 53(7), pp. 747-54.

Zmener, O. & Speilberg, C., 1995, Cleaning of endodontic instruments before use, *Endodontics & Dental Traumatology*, 11(1), pp. 10-14.

Zobeley, E., Flechsig, E., Cozzio, A., Enari, M. & Weissmann, C., 1999, Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface, *Molecular Medicine*, 5(4), pp. 240-3.

9. Anhang

9.1. Materialverzeichnis

#1	Reamer (ISO 20-30)	VDW GmbH, D-81709 München
#2	Hedströmfeilen (ISO 20-30)	VDW GmbH, D-81709 München
#3	Latexhandschuhe	NOBA Verbandmittel Danz GmbH, D-58300 Wetter
#4	Eppendorfcup	Eppendorf AG, D-22331 Hamburg
#5	Aqua dest. ad injectabilia	Diaco, I-34147 Triest
#6	Pipette	Gilson, Abimed, D-40764 Langenfeld
#7	Pipettenspitzen, Diamond Catalog No. F167103	Gilson, Abimed, D-40764 Langenfeld
#8	Pinzette, steril	J+K Instrumente e.K., D-42697 Solingen
#9	Ultraschallsonde	EMS GmbH, D-81829 München
#10	Vaccum Concentrator	Bachhofer GmbH, D-7410 Reutlingen
#11	Vortexer	Janke und Kunkel GmbH und CoKG, D-79219 Staufen
#12	Bio Rad Protein Assay dye reagent concentrate	BioRad Laboratories GmbH, D-80939 München
#13	BioPhotometer	Eppendorf AG, D-22331 Hamburg
#14	Einwegküvette (Mikro-)	Brand GmbH und CoKG, D-97861 Wertheim
#15	Protein Bovine Serum Albumin	Sigma Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim
#16	Falcon Propylen-Rundboden-Röhrchen mit Verschlusskappe 14ml, steril	Greiner Bio-one GmbH, A-4550 Kremsmünster
#17	Brenner	Camping Gaz GmbH, A-1230 Wien
#18	Steritüte	AMCOR Flexibles SPS 77527 Coulommier Codex France
#19	Brain Heart Infusion Broth	Sigma Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim
#20	Waage (BP 110S, Geräte-Nr. 60403914)	Sartorius AG, D-37075 Göttingen
#21	Magnetrührer	Janke und Kunkel GmbH und CoKG, D-79219 Staufen
#22	Autoklav	Systec GmbH Labor Systemtechnik, D-35435 Wettenberg
#23	Schüttelwasserbad	Infors AG, CH-4103 Kremsmünster
#24	Einwegküvette (Halbmikro-)	Brand GmbH und CoKG, D-97861 Wertheim

9.2. Fragebogen

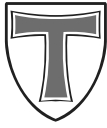
	ja	nein
1.Reinigungsmethoden:		
a) Werden die Instrumente mit Bürsten oder Ähnlichem manuell gesäubert?		
- Werden die Feilen vor der manuellen Reinigung konsequent feucht gehalten?		
b) Werden die Instrumente maschinell mittels einer Spülmaschine gesäubert?		
c) Werden die Instrumente im Ultraschallbad gereinigt?		
- Falls ja, wie oft wird die Flüssigkeit im Bad gewechselt?		
- Befindet sich im Bad ein zusätzliches Reinigungsmittel?		
- Wird die Effektivität des Bades in regelmäßigen Abständen kontrolliert?		
-> wenn ja, wie oft		
d) Wird ein Dampfsterilisator verwendet?		
e) Wird eine oder mehrere der folgenden Reinigungslösungen benutzt?		
- Hamo 100 PD		
- Prionzyme		
- SDS und NaOH		
- sonstiger alkalischer Reiniger		

2. Kontrolle		
f) Werden Instrumente routinemäßig nach der Sterilisation auf sichtbaren Schmutz untersucht?		
-> falls ja, von wem?		
-> mit Vergrößerungshilfen?		
g) Werden Instrumente einer bestimmten Größe immer gleich entsorgt?		
h) Wird die Anzahl der Aufbereitungszyklen dokumentiert?		
i) Werden defekte Instrumente sofort entsorgt?		
-> wenn ja von wem?		

3.Verpackung und Lagerung		
Verpackung		
j) In Boxen		
-> wenn ja, mit Filterpapier?		
k) Einfach eingeschweißt		
l) Doppelt eingeschweißt		
Lagerung		
m) Im Regal		
n) Im Schrank/Schublade		
o) Über einen Zeitraum von		
- bei m)		
- bei n)		
- bei o)		
p) Sind die Verpackungen mit Datum & Lagerfrist gekennzeichnet?		
q) Gibt es eine Trennung zwischen Behandlungsbereich und Säuberungsbereich?		
-> falls ja, wird im Säuberungsbereich AUSSCHLIEßLICH gesäubert?		
r) Kontaminationsgeschützter Transport zwischen Steri- & Behandlungsbereich?		
s) Gibt es einen definierten Bereich für sterile und unsterile Instrumente?		

	ja	nein
4. Personal & Management		
t) Werden die Reinigungsprozesse dokumentiert?		
u) Gibt es spezielles Reinigungspersonal für die Aufbereitung der Instrumente?		
v) Wurden Schulungen/Einweisungen durchgeführt?		
->wenn ja, waren diese extern?		
-> werden Unterweisungen regelmäßig wiederholt & dokumentiert?		

9.3. Anschreiben an Zahnarztpraxen



Justus-Liebig-Universität
Gießen

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Georg-Voigt-Str. 3,
35039 Marburg

UNIVERSITÄTSKLINIKUM GIESSEN UND MARBURG GMBH



Philipps-Universität
Marburg

Abteilung Zahnerhaltungskunde
Komm. Direktor:
Prof. Dr. K. Pieper
Standort Marburg

Hausanschrift: Georg-Voigt-Str. 3, 35039
Marburg
Postanschrift: 35033 Marburg
Telefon: ++49 6421-28 63215
Telefax: ++49 6421-28 63245
e-mail: sonntag@med.uni-marburg.de
Internet: www.med.uni-marburg.de
Aktenzeichen:

Mitarbeit an einer Untersuchung zur Hygienefähigkeit von endodontischen Handinstrumenten

Sehr geehrter Kollege,

Für eine wissenschaftliche Untersuchung der Universität Marburg möchten wir Sie um Ihre Unterstützung bitten.

In der Studie sollen endodontische Handinstrumente auf ihre Hygienefähigkeit untersucht werden.

Die zu untersuchenden Instrumente sollten in Ihrer Praxis schon mindestens einmal am Patienten angewendet und anschließend sterilisiert worden sein.

Für einen einfachen Ablauf, erscheint es uns vorteilhaft die Instrumente direkt in Ihrer Praxis abzuholen. Im Tausch für Ihre zehn gebrauchten Feilen erhalten Sie von uns umgehend fabrikneue Instrumente. Der Zeitaufwand beläuft sich mit einem einseitigen Fragebogen und dem Austausch der Instrumente auf ca. fünf Minuten.

Sowohl Fragebogen als auch Instrumente werden vor der Auswertung codiert und anschließend anonymisiert ausgewertet.

Bitte senden Sie die bereits frankierte Postkarte zeitnah zurück, damit wir einen Termin vereinbaren können. Es wäre schön, wenn Sie darauf vermerken, wann Sie am besten telefonisch zu erreichen sind.

Bei Rückfragen können Sie mich gerne unter 06421/5863215 oder auch privat direkt unter 0177/8089281 anrufen.

Für Ihre Unterstützung unserer Studie möchten wir uns bereits jetzt herzlich bedanken!

Mit herzlichem Gruß,

PD Dr. David Sonntag

c.m.d. Maja Luise Brilmayer
(Doktorandin)

9.4. Postkartenentwurf für Rückmeldung

RÜCKANTWORT					
Praxis: _____					
Am günstigsten erreichen Sie uns:					
Mo	Di	Mi	Do	Fr	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
gegen _____ Uhr					
					Zentrum für Zahn- Mund- & Kieferheilkunde Klinik für Zahnerhaltungskunde z.H.: PD Dr. David Sonntag Georg-Voigt-Straße 3 35039 Marburg

10. Danksagung

Herrn PD Dr. David Sonntag möchte ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die tatkräftige und menschliche Unterstützung bei meiner Arbeit danken.

Herrn Harald Schmitt danke ich für die bereitwilligen Auskünfte sowie interessante Literatur und für die unkomplizierte Aufnahme an seinem Arbeitsplatz.

Großen Dank an meine Eltern - welche in Diskussionen und Unterhaltungen meinen Horizont erweiterten - , Familie und meinen Freunden.

Vielen Dank auch an alle beteiligten Zahnarztpraxen, welche mich so vertrauensvoll unterstützt und diese Studie erst ermöglicht haben.

11. Tabellarischer Lebenslauf

Diese Seite enthält persönliche Daten und ist deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

12. Verzeichnis meiner Akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen und Herren
Universitäts-

Professoren und Dozenten:

Aumüller, Coca, Cordes, Daut, Dibbets, Feuser, Flores-de-Jacoby,
Frankenberger, Gente, Höffken, Jablonski-Momeni, Koolmann, Lill, Lotzmann,
Mandrek, Mengel, Mittag, Mutters, Neff, Neumüller, Nonnenmacher, Pancherz,
Pieper, Ramaswamy, Richter, Schäfer, Seitz, Sonntag, Stachniss, Stoll,
Teymoortash, Weihe, Wennemuth, Westermann

13. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die im Fachbereich Humanmedizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

Untersuchung des Kontaminationsgrades
von endodontischen Instrumenten in Zahnarztpraxen

im Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Philipps Universität Marburg unter der Anleitung von PD Dr. Sonntag ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.